UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1941-1942 N° 296

Sur les causes d'altération des CONSERVES DE VIANDES ET D'ABATS et la diminution de leur valeur alimentaire

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Juin 1942
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

A. BAUD
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président
M. P. CORDIER, Professeur
M. R. SARTORY, Professeur
} Juges

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon,
Clermont-Fd

1941

UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1941-1942 N° 296

Sur les causes d'altération des CONSERVES DE VIANDES ET D'ABATS et la diminution de leur valeur alimentaire

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Juin 1942
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

A. BAUD
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. A. SARTORY, Doyen, Président
M. P. CORDIER, Professeur
M. R. SARTORY, Professeur
} Juges

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon,
Clermont-Fd

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✪, C. ✠
VOLMAR, *Assesseur*, ✻, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ✻, ⚕, ⚱, ✪.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✇, ✠.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✪, C. ✠.	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✻, I. ✪, ✠.....	Botanique
	VOLMAR, ✻, I. ✇.....	Chimie organique.
	GUILLAUME, O. ✻, ⚕, I. ✪, ✠	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪.....	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪.....	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, ✠.....	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M.	DUQUENOIS.....	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ✠.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY.....	Hygiène.
	LAVIALLE.....	Hydrologie.
	VOLMAR.....	Chimie minérale.
	GUILLAUME.....	Zoologie
	LAPP.....	Physique
	PRÉLOT.....	Législation et Déontologie.
	CORDIER.....	Chimie biologique.
	R. SARTORY.....	Cryptogamie.
	Mme LALLEMAND, ✇	Pharmacodynamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ✻ ⚕, I. ✪.	Chimie pharmaceutique.
	Mme LALLEMAND, ✪.....	Chimie et Physique.
	JÆGER.....	Histoire naturelle.
	LEDOUX, ✻	Bactériologie et Parasitologie

A MON MAITRE *et* PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR A. SARTORY

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Professeur de Bactériologie
à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Strasbourg
Commandeur de la Légion d'Honneur

Expression de ma gratitude entière, admiration déférente et parfait dévouement.

A MES JUGES :

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CORDIER

Professeur de Pharmacie chimique
de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage de profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR RENÉ SARTORY

Professeur de Matière Médicale
de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Témoignage de mon respect et de ma reconnaissance.

A MES PARENTS,

A MA FEMME,

A MA FAMILLE,

A MES AMIS.

En gage de reconnaissance et d'affections sincères.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543528_0053

INTRODUCTION

Ce travail constitue une suite des recherches effectuées depuis la période de guerre par l'école du Professeur A. SARTORY, *Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.*

Malheureusement, ces expériences n'ont pas pu être effectuées, comme on pourrait le croire, dans les laboratoires modernes et confortables de Strasbourg, mais dans les différentes étapes de migration qu'a du parcourir à la suite des événements de la guerre, le Service de Bactériologie de cette Faculté.

Ainsi, les premières recherches ont été effectuées dans le Laboratoire militaire de Sarrebourg, dirigé par l'ex-Chef de Travaux Pratiques, Monsieur Jacques MEYER. *Ces travaux ont été poursuivis ensuite à Paris dans les laboratoires de l'Intendance militaire, pour être finalement repris à Clermont-Ferrand, siège actuel et provisoire de l'Université de Strasbourg.*

L'étude de la flore microbiologique des conserves de viande et d'abats, que nous avons continué à Clermont-Ferrand simultanément avec celle de M. NACHED LANCIN SALIB, *n'a été possible que grâce aux souches bactériennes sauvées des Laboratoires de Sarrebourg, malgré les difficultés de la guerre.*

Le développement de la capacité de production de l'industrie des Conserves, date des événements de la guerre de 1914 *à* 1918. *Les services militaires avaient très justement prévu la possibilité de créer d'importants stocks alimentaires, qui permettraient de parer à la raréfaction des produits nutritifs en cas de difficultés du ravitaillement. D'autre part, la facilité de l'approvisionnement de l'armée en temps de guerre par l'utilisation d'aliments mis en conserves et directement prêts pour la consommation a fortement contribué à donner une impulsion toujours grandissante à l'industrie des conserves. Les différents Gouvernements et leurs Ministres de la Guerre et de la Défense Nationale ont largement encouragé ces entreprises.*

Il est, en effet, facile de conserver les céréales et les produits hydrocarbonés sans traitement particulier ; l'alimentation en matières ternaires, glucidiques, nécessaires aux hommes en temps de guerre ou de disette était donc assurée ; par contre, les protéines et les matières grasses ne se conservent convenablement que lorsque ces substances ont été spécialement traitées.

L'intérêt de pouvoir conserver des produits alimentaires en prévision de périodes de troubles est, d'ailleurs, connu depuis très longtemps, et nous ne rappelons ici que le prix créé par Napoléon *et gagné par* Nicolas Appert (1) *pour une « méthode de conservation de produits alimentaires donnant, en outre, des produits facilement transportables ».*

C'est vers 1804 *que* Appert *inventa une méthode pour la préservation des aliments, consistant à les enfermer à l'état stérile dans des récipients hermétiquement fermés. Quelques années plus tard, il vulgarisait sa technique dans « Le livre de tous les ménages ou l'art de conserver pendant plusieurs années toutes les substances animales ou végétales ».*

Il décrit son invention d'une façon très claire par l'exposé suivant :

« Je dois à mes expériences et surtout à une longue persévérance de m'être convaincu :

« 1° Que la matière du feu a la propriété à elle seule, non seulement de changer la combinaison des parties constituantes des productions végétales et animales, mais encore celle, sinon de détruire, du moins d'arrêter pour plusieurs années l'effet de la tendance naturelle de ces mêmes produits à la décomposition ;

« 2° Que son application d'une manière convenable à tous ces produits, après les avoir privés le plus rigoureusement possible du contact de l'air, opère la parfaite conservation de ces mêmes produits avec toutes leurs qualités naturelles. »

A la même époque, Appert *organisa la première fabrique de conserves alimentaires à Massy, où il employa plus de cinquante ouvriers. Comme tous les scientifiques de France qui ont essayé de transformer leurs découvertes et leurs expériences de laboratoire en une organisation pratique et une exploitation industrielle,* Appert *a été fort discuté et c'est principalement* Gay-Lussac *qui lui opposa des critiques très âpres. En* 1814, *les difficultés qu'*Appert *rencontra, se transformèrent alors en désastre par la destruction de l'usine de Massy à la suite de la guerre et de l'envahissement de la France par les troupes allemandes et russes.*

Mais dès 1817, *cet homme, âgé de* 67 *ans, avait l'énergie nécessaire pour monter une nouvelle exploitation de ses procédés, et c'est à ce moment où* APPERT, *en remplaçant les flacons en verre par des boîtes en fer-blanc soudées, créa la base de l'industrie des conserves, dont nous connaissons actuellement le développement et l'importance pour l'économie de chaque pays.*

*C'est là aussi dans cette petite usine d'*APPERT, *où se trouve le berceau des marmites autoclaves, améliorant la fabrication des conserves.*

Il fallait un demi-siècle encore à la Science jusqu'à ce que PASTEUR *publia et défendit ses découvertes pour pouvoir donner une explication scientifique satisfaisante aux travaux d'*APPERT, *ce précurseur scientifique et réalisateur infatigable, que nous pouvons appeler « le père de l'industrie des conserves ».*

*Nous aurons l'occasion de démontrer au cours de notre travail l'importance de cette découverte d'*APPERT *pour l'économie française et mondiale, et nous donnerons quelques statistiques qui énumèreront la grande variété des aliments aptes à la conservation grâce aux procédés d'*APPERT.

On connaît actuellement les qualités de conservation des aliments en boîtes de conserve et l'importance des conserves alimentaires n'échappe plus à personne, surtout par les temps que nous vivons.

En ce qui concerne la durée de conservation, JONES (2), *mentionne qu'il a eu récemment l'occasion d'ouvrir une boîte de conserve de viande qui avait été préparée en* 1881 *et il a trouvé « le produit en parfaite condition, n'ayant subi aucune coloration et aussi appétissant que le jour où il avait été préparé ».*

Si les preuves de la qualité des conserves ne sont donc plus à faire actuellement, il faut cependant reconnaître que la fabrication de ces aliments est délicate et de multiples facteurs peuvent intervenir pour amener une détérioration des conserves.

Ces produits alimentaires peuvent s'altérer pour trois causes principales : l'action des micro-organismes, la corrosion des boîtes ou un défaut de fermeture de la boîte dès la fabrication.

C'est à ce sujet que se sont adressés dans ces derniers temps les principales expériences tendant à améliorer la fabrication des conserves, et nous avons essayé d'apporter une contribution à ces recherches en étudiant les altérations des conserves de viandes et d'abats par les bactéries.

Notre travail se divise en trois parties :

Dans la première, nous avons tenu à relater quelques statistiques qui permettent de se rendre compte de l'importance et de

l'évolution qu'a pris l'industrie des conserves dans les différents pays.

Dans le deuxième chapitre, nous donnons un aperçu sur les méthodes à suivre pour l'examen microbiologique des conserves de viande et d'abats, et nous tenons à relater plus particulièrement l'étude des Anaérobies.

Le troisième chapitre donne les considérations générales sur les causes d'altération des conserves de viande et des abats, tel que l'on envisage actuellement ce problème.

Dans le quatrième chapitre, nous apportons une revue des principales bactéries susceptibles d'altérer les conserves de viande et d'abats après l'abatage des animaux de boucherie.

Les bactéries sporogènes anaérobies, thermorésistantes, dangereuses pour la conserverie, sont décrites dans le cinquième chapitre.

La deuxième partie de cette thèse a trait à l'exposé de nos travaux personnels.

Un chapitre est réservé à l'étude microbiologique détaillée du Clostridium bifermentans, *organisme qui nous a servi à effectuer nos recherches sur les causes d'altération des conserves de viande et d'abats.*

Le septième chapitre décrit les techniques modernes de fabrication des conserves.

Dans le huitième chapitre on trouve l'exposé sur les appareils et méthodes employés au cours de nos recherches.

Le neuvième chapitre est destiné à la description de nos recherches sur les relations de la stérilisation avec la concentration en ions H des conserves.

Dans le dixième chapitre nous donnons les détails de nos expériences pour étudier le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la stérilité des conserves.

Dans les conclusions générales nous avons résumé les faits qui se sont dégagés de nos recherches et nous avons essayé d'y expliquer les facteurs intervenant dans l'altération des conserves par les bactéries.

Si nous arrivons ainsi à améliorer par notre travail les conditions de fabrication et de conservation de ces denrées alimentaires de première importance pour les besoins nutritifs de la population de France, si éprouvée par les suites de la guerre, et pour l'économie nationale de tous les pays, nous pouvons considérer que nous avons atteint le but que notre cher Maître, Monsieur le Professeur A. Sartory, *Doyen de la Faculté de Pharmacie de*

Strasbourg, nous a confié. Nous lui exprimons ici notre vive gratitude pour l'intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner pendant toute la période de nos études à cette Faculté de Pharmacie de Strasbourg, tellement éprouvée par les événements actuels et dont les laboratoires, dotés d'un appareillage et d'une installation des plus modernes, peuvent servir de modèle à ceux qui les occupent actuellement.

Notre reconnaissance s'adresse aussi à MM. les Professeurs R. Sartory et P. Cordier, *qui ont bien voulu accepter de participer au Jury de notre thèse.*

Si nous avons pu réussir dans la tâche qui nous a été tracée, c'est en premier lieu grâce à M. Jacques Meyer, *ex-chef de Travaux de Bactériologie et de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui a bien voulu mettre à notre disposition les souches de bactéries qu'il avait isolées de conserves avariées de l'intendance militaire pendant le temps de campagne de* 1939 *à* 1940 *et qu'il a pu sauver de la débâcle avec beaucoup de difficultés. Il a bien voulu nous guider dans l'élaboration de ce travail et n'a cessé de nous encourager par ses conseils, malgré les obstacles multiples de la crise actuelle.*

Que M. Wurtz, *assistant de Bactériologie et de Cryptogamie, qui nous a aidé dans la mise au point de nos techniques, veuille trouver ici l'assurance de notre souvenir amical et reconnaissant.*

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE Ier

L'ORGANISATION DE L'INDUSTRIE DES CONSERVES EN FRANCE JUSQU'A LA GUERRE 1939-1940

En France, l'organisation de l'Industrie des Conserves se composait de trois groupements, qui étaient nettement spécialisés chacun dans un secteur bien différent, mais se complétant réciproquement et formant ainsi une organisation homogène ; ils ont réalisé par leur travail et leur entente un progrès très marqué de l'industrie française des Conserves.

Il faut donc considérer les trois groupements suivants. Les représentants de l'industrie des conserves s'étaient groupés dans des Syndicats, qui formaient le Conseil National de la Conserve.

Ce conseil était formé par :

1° La Fédération des Syndicats français de fabricants de Conserves de légumes, viandes et fruits.

II. L'Union des Syndicats français de fabricants de Conserves de Sardines et autres poissons.

La partie technique et de propagande était représentée par deux groupements qui constituaient le Comité interprofessionnel de la Conserve.

Ce Comité était formé par la réunion des représentants :

1° Du comité de Propagande des Produits agricoles en Conserve (COPAC).

2° Et du Comité pour le développement de la fabrication et de la vente des Conserves de poissons (CODECOP).

Puis, il se créa en 1933, un troisième groupement :

III. Le Comité Scientifique pour l'organisation et le développement de l'industrie française de la conserve.

Son rôle consistait à conseiller les fabricants de conserves en ce qui concerne les problèmes d'ordre technique et scientifique.

La présidence de ce Comité a été confiée au Professeur Gabriel Bertrand, membre de l'Institut. Les membres titulaires se recrutaient parmi le corps médical, pharmaceutique, les biologistes et les chimistes. Les membres consultatifs appartenaient aux diverses branches de l'industrie de la conserve et des industries annexes, fer-blanc, boîtes, appareils, etc. Il s'agissait donc de techniciens, capables de fournir des renseignements pratiques.

C'est sous l'impulsion de ces trois groupements, que l'industrie française de la Conserve a fait un tel progrès qu'en 1937 le premier Congrès International de la Conserve pouvait se réunir et siéger à Paris sous la présidence de M. René Manaut (3), président du Comité Interprofessionnel de la Conserve de France.

Nous avons retenu dans son discours d'inauguration le passage suivant :

« Il y aura bientôt cinq ans, tous ceux qui, dans ce pays, s'intéressent au développement de la consommation des conserves, ont créé un organisme dans lequel sont groupés les représentants des agriculteurs, des marins-pêcheurs, des forges productrices de fer-blanc, des fabricants de boîtes métalliques, des conserveurs et des épiciers. »

C'est ce groupement que nous appelons le Comité Interprofessionnel de la Conserve.

Dès sa création, décidé à faire tous les efforts en vue de l'augmentation de la consommation des conserves, il a estimé indispensable de ne laisser fournir aux consommateurs que des produits de qualité hygiénique absolument irréprochables et, pour cela d'amener les fabrications au plus haut degré possible de perfection.

A cette fin, nous inspirant de la forte pensée de Pascal : « On n'atteint jamais le point où il est impossible de faire mieux », nous nous sommes entourés des conseils précieux

des hommes de science, des techniciens les plus avertis, des praticiens du fer-blanc et des boîtes métalliques.

Grâce au concours de ces trois groupements, la fabrication et la consommation des conserves a, en effet, fait un progrès considérable en France.

Les chiffres suivants donnent une idée très nette sur l'importance de cette production :

On a utilisé en France 56.000 tonnes de fer-blanc en 1913, alors qu'en 1934 l'emploi de cette matière se chiffrait par 90.000 tonnes, dont 65% doivent être réservés à l'industrie des boîtes de conserves.

Le tableau suivant indiquant la statistique de la production des conserves en France pendant neuf années, est encore plus démonstratif :

STATISTIQUE DE LA PRODUCTION DES CONSERVES EN FRANCE

Années	Petits pois (en caisses de 50 boît.)	Haricots verts	Tomates	Sardines	Thon	Viandes
1929	758.000	174.000	61.134.000			
1930	849.000	204.000	34.537.000			
1931	719.000	187.400	32.091.000			
1932	856.500	183.200	31.818.000			
1933	805.000	231.500	55.000.000	12.883.000	3.793.000	
1934	1.193.000	262.817	87.351.000	15.250.701	6.921.147	9.725.900
1938	1.724.000	387.500	123.475.000	26.300.500	22.550.000	31.646.800

En considérant ces chiffres, on se rend facilement compte que l'organisation de l'industrie française des conserves a fourni un travail utile, couronné d'un beau succès et en suivant la devise employée par R. Manaut (3) au premier Congrès International de la Conserve :

« On n'a jamais atteint le point où il est impossible de faire mieux »

Il est permis de prévoir pour l'avenir un développement encore plus accentué de cette branche de l'économie nationale française, car en considérant la consommation des conserves sur le territoire métropolitain, il est certain que l'augmentation de la pratique des sports et des excursions, la tendance

actuelle de voyager et le développement consécutif des moyens de transport, occasionneront un accroissement de la fabrication et de l'emploi des conserves.

Quant aux possibilités du développement de l'industrie de la conserve dans le domaine colonial de la France, nous nous permettons de reproduire ici l'avis de G. Génin (4) : « La production de conserves de crustacés est pratiquement nulle dans les colonies françaises. Cependant les ressources naturelles de certaines de nos colonies d'Asie et de l'Océan Indien sont importantes et conviennent à cette production : il serait techniquement et économiquement possible de produire des conserves de langoustes en Indochine, à Madagascar, aux Iles Saint-Paul et Amsterdam, des conserves de Crabes en Indochine et à Madagascar.

On produit peu de conserves d'Ananas aux Antilles françaises, bien que la France soit une consommatrice importante de conserves d'Ananas. La production d'Ananas frais existe ou est facile à organiser dans d'autres parties du domaine colonial de France : Afrique Occidentale française (Guinée, Dahomey), Indochine, de même, il est possible d'organiser dans ces pays la production des conserves d'Ananas.

« Pour ce qui est de la consommation, lorsque les questions techniques et économiques auront été convenablement résolues et bien que le nombre des blancs vivant dans l'empire colonial de la France soit relativement peu élevé par rapport à la population totale, il convient de noter que le *colonial*, subissant souvent des climats peu favorables à la qualité des produits alimentaires du pays, consomme volontiers des produits alimentaires, provenant de la métropole et ayant les qualités des produits réellement frais de France, c'est-à-dire des conserves françaises bien fabriquées.

« Quant à la consommation par les indigènes, il ne faut pas publier que leur élévation au standard de l'existence à l'européenne s'est faite en peu d'années dans certains pays : les indigènes de l'Algérie, sauf ceux des territoires du Sud, consomment aujourd'hui des conserves. Les indigènes du Niger, par exemple, qui paraissent pouvoir être assimilés plus rapidement encore que ceux de l'Algérie, ne seront-ils pas dans quelques années des consommateurs importants de conserves ? »

On se rend compte donc que le développement de l'industrie de la conserve en France est encore possible dans de larges proportions et après cette malheureuse guerre nous avons le

devoir de contribuer, dans la mesure du possible de chacun d'entre nous, à l'amélioration de cette industrie, constituant une branche importante de l'économie nationale française.

Si nous voulons créer quelque chose de durable, il est nécessaire, non seulement, de contribuer à l'augmentation de la production française de conserves, mais surtout à l'amélioration de la fabrication et à la qualité de nos conserves françaises.

C'est pour cette raison, que nous avons essayé dans ce travail, d'étudier les causes des altérations et de la diminution de la valeur alimentaire des conserves de viandes et d'abats.

CHAPITRE II

MÉTHODES A SUIVRE POUR L'EXAMEN MICROBIOLOGIQUE DES CONSERVES DE VIANDE ET D'ABATS

L'examen microbiologique des conserves de viande et d'abats peut être effectué au moyen de trois procédés que l'on doit envisager de la façon suivante :

1e L'examen préliminaire par la mise à l'épreuve du gonflage ou du bombage des boîtes de conserves par l'étuvage.

2o L'examen bactériologique direct des boîtes de conserves reconnues défectueuses par prélèvements aseptiques dans le contenu de la boîte, suivis de l'analyse microscopique et culturale.

3o L'examen bactériologique spécifique du prélèvement microbien pour déterminer l'agent ou les agents de contamination des conserves.

Dans le Service de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, la technique employée est la suivante :

On divise le lot à examiner en trois séries.

La première série, qui constitue trois cinquièmes des boîtes à examiner, est réservée pour l'épreuve de l'étuvage.

Le reste du lot à examiner qui constitue deux cinquièmes des boîtes, est mis de côté pour servir au but suivant :

Une partie de ces boîtes sert éventuellement pour effectuer l'examen bactériologique direct par frottis et cultures. Ces recherches doivent confirmer les résultats obtenus au moyen des boîtes gonflées.

La troisième série, constituée par le dernier cinquième des boîtes du lot, est conservée comme témoin de contrôle éventuel en cas de controverse ou de contestation, nécessitant une expertise ultérieure.

Procédé d'étuvage des conserves de viande

L'examen proprement dit se pratique de la façon suivante :

La première série de boîtes est à son tour encore divisée en deux parties.

Deux cinquièmes des boîtes sont étuvées pendant huit jours à + 37°.

Un cinquième des boîtes est étuvé pendant trois ou quatre jours à + 55°.

Ce protocole présente des avantages multiples. En premier lieu, l'étuvage à + 55° est particulièrement recommandable, car souvent on a à faire à des bactéries essentiellement thermophiles et dans ce cas les boîtes contaminées présentent le symptôme de gonflage dans un temps plus court. le résultat de l'analyse s'obtient donc plus rapidement.

D'autre part, certaines bactéries n'évoluent pas à l'étuve à + 37°, puisque la température intérieure de la boîte de conserve fermée ne correspond pas à la température ambiante.

Il se peut, comme nous allons le voir, que les conserves soient contaminées par des bactéries mésophiles. et dans ce cas seules les boîtes placées à + 37° donnent un résultat positif, alors que celles à + 55° restent négatives, car nous savons que le chauffage à + 53° pendant 25 minutes d'une culture de Colibacille, par exemple, tue la plupart des germes et empêche les survivants de se développer. (Schulz et Ritz) (5).

Ainsi, on procède par la méthode que nous avons suivi, à trois épreuves différentes :

L'étuvage à + 37°, destiné principalement à la recherche des bactéries mésophiles, telles que le Colicabille et les Salmonella, mais confirmant souvent aussi les résultats obtenus par les cultures à + 55°.

L'étuvage à + 55°, s'adressant plus particulièrement au contrôle de la présence des bactéries thermophiles et permettant un diagnostic rapide.

Le contrôle bactériologique direct par l'examen microscopique et par la culture ; cette recherche doit s'effectuer à la fois sur les boîtes gonflées par l'étuvage et sur celles non étuvées provenant du même lot.

Analyse microbiologique directe des boites de conserve de viande et d'abats

Lorsque dans un lot de conserves de viande ou d'abats lé présence de boîtes défectueuses a été constatée par le procéda d'étuvage, on doit procéder à l'analyse microbiologique directe du lot.

La technique pour cet examen est la suivante :

On lave le couvercle de la boîte que l'on veut examiner avec un tampon d'ouate imbibé d'alcool. Puis on dirige la flamme d'un bec Bunsen sur la surface du couvercle et on enfonce un poinçon stérilisé à travers la flamme dans la boîte.

S'il s'agit d'une boîte bombée par l'étuvage, il faut procéder avec précaution, car la pression intérieure de la boîte est souvent très forte et le contenu plus ou moins liquéfié peut être ainsi projeté, à travers l'ouverture pratiquée, vers l'extérieur.

En outre, au moment de cette manipulation, il faut toujours prendre les précautions préalables pour pouvoir capter les gaz, qui s'échappent par l'ouverture de la boîte gonflée. L'examen de ces gaz est très utile et peut donner des indications favorables pour orienter les recherches ultérieures en vue de déterminer l'agent microbien occasionnant la contamination.

Après avoir effectué ces manipulations avec toutes les garanties d'une asepsie rigoureuse, on procède au prélèvement bactériologique proprement dit. On introduit un long fil de platine ou un ensemenceur dans la boîte par le trou pratiqué à l'aide du poinçon. L'ensemenceur chargé est rapidement retiré et on porte le prélèvement stérilement dans un milieu de culture approprié.

On effectue ensuite un second prélèvement, toujours avec les mêmes précautions d'asepsie, pour préparer trois frottis, destinés à l'examen microscopique direct. Deux frottis sont fixés à la flamme pour servir à la coloration par la méthode de Gram. Le troisième frottis nous a servi pour la coloration au MAY-GRUNWALD-GIEMSA.

Les produits que nous avons examinés étant constitués par de la viande ou des abats, donc des matières solides en suspension dans un liquide, il est nécessaire de répéter l'opération en faisant plusieurs trous dans la boîte à des endroits différents, car les bactéries ne sont pas toujours réparties d'une façon homogène dans l'ensemble du contenu de la boîte de conserve. Il faut avoir la garantie d'avoir prélevé des particules ayant subi la contamination microbienne.

Afin de cultiver nos bactéries provenant des boîtes de conserve altérées, et d'être sûr de la possibilité du développement de ces bactéries sur le milieu de culture d'isolement, nous avons été obligé de procéder, tout d'abord, à des essais préalables pour trouver un substrat de composition stable et toujours semblable, nous donnant la certitude d'être favorable au développement de la plupart des microorganismes pouvant figurer dans les conserves de viande et d'abats.

A première vue, le bouillon Martin offre toutes les garanties qu'exige la culture des bactéries protéinophiles, mais ce subtrat est trop inconstant en ce qui concerne sa composition. Nous avons donc essayé de constituer un substrat synthétique à composition toujours identique et réalisant favorablement les conditions exigées par nos bactéries.

Après de multiples recherches où nous avions effectué des cultures comparatives entre le bouillon Martin et différents milieux synthétiques, notre choix s'est fixé sur le substrat suivant :

Asparagine	3 gr.
Phosphate bipotassique	1 gr.
Sulfate ferrique	0 gr. 10
Chlorure de Calcium	0 gr. 10
Sulfate de Magnésium	0 gr. 30
Chlorure de Sodium	1 gr.
Glucose	5 gr.
Eau distillée	1.000 cc.

Pour pratiquer l'isolement des différents organismes pouvant co-exister dans les boîtes de conserves infectées, nous avons employé le même milieu liquide auquel nous avons ajouté soit 25 gr. de Gélose pour 1000 cc de solution, soit 100 gr. de Gélatine pour 1000 cc de bouillon, suivant l'expérience que nous envisagions et suivant qu'il s'agissait de bactéries mésophiles ou thermophiles.

Pour ces isolements, nous avons employé soit la méthode d'ensemencement sur plaque de gélose ou de gélatine coulée en boîte de Pétri, soit l'ensemencement en stries sur milieu solide incliné en tubes de culture. L'ensemencement est toujours pratiqué par dilution progressive.

Pour réussir l'isolement des agents infectieux des conserve, il faut effectuer des cultures en aérobiose et en anaérobiose.

Une période de 48 heures de culture est habituellement

suffisante pour obtenir le développement des aérobies pouvant exister dans les conserves de viande, tandis que l'amorcement des anaérobies est généralement plus lent et très souvent une durée d'une semaine et même plus est nécessaire, avant que la croissance se manifeste sur les milieux nutritifs.

Nous avons utilisé pour nos cultures en anaérobiose le dispositif couramment employé dans le laboratoire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, et nous donnons ci-dessous sa description que nous empruntons à J. Meyer (6).

L'appareil pour la culture en anaérobiose se compose essentiellement d'un grand verre de conserve (3 litres), hermétiquement fermé par un couvercle en verre rodé. Deux anneaux en caoutchouc superposés assurent une parfaite étanchéité. Un support en fil de fer placé à l'intérieur du verre maintient les tubes de cultures en position verticale ou les boîtes de Pétri superposées, que l'on veut placer dans le vide très poussé.

Un manomètre à mercure, fixé à l'intérieur du verre de conserve sur le support métallique permet à tout instant de mesurer le degré du vide. A ce support, est fixé en plus une éprouvette fermée par un bouchon de caoutchouc et que traverse un tube en verre courbé en U renversé. Une extrémité se termine à l'intérieur de l'éprouvette à quelques deux ou trois millimètres du fond de celle-ci. L'autre extrémité, libre, prend fin à 2 centimètres du fond du vase de conserve, et elle est étirée en forme capillaire.

L'éprouvette renferme une solution alcoolique de potasse de composition suivante :

KOH.....	10 grammes
Alcool à 70°.....	100 cc

Au fond du vase de conserve on dispose environ 10 gr. d'acide pyrogallique (pyrogallol) : $C^6\ H^3\ (OH^3)$.

Mode d'emploi de l'appareil.

Le vide se fait d'abord à l'aide d'une aiguille hypodermique de modèle courant reliée à une trompe à vide au moyen d'un tube en caoutchouc. L'aiguille est placée entre les deux anneaux de caoutchouc destinés à produire l'étanchéité du verre de conserve.

Dès que l'atmosphère intérieure du verre de conserve accuse une pression inférieure à celle surmontant la solution de potasse — ce qui se produit rapidement — la solution de potasse commence à monter dans la branche ascendante intérieure du tube en U et bientôt elle atteint le point culminant pour s'écouler ensuite, goutte à goutte, par le tube capillaire extérieur sur le fond du verre. Peu à peu, elle imbibe l'acide pyrogallique se trouvant dans le bas du verre de conserve. Il se forme donc du pyrogallate de potassium et d'oxygène se trouvant dans le dispositif est absorbé.

On maintient l'aiguille jusqu'à ce que le manomètre accuse un vide presque parfait. L'emploi d'une pompe à vide permet souvent d'atteindre ce but plus rapidement encore qu'à l'aide de la trompe à eau. A ce moment, on retire l'aiguille brusquement entre les anneaux de caoutchouc, qui continueront à assurer le vide dans le verre de conserve. Si par la suite une petite quantité d'air, pratiquement d'oxygène, venait à y pénétrer, elle serait immédiatement absorbée par le pyrogallate de potassium, qui se forme par l'écoulement d'une nouvelle fraction de potasse, dû à la variation de la pression intérieure du dispositif.

Le vide se règle donc spontanément, grâce à l'équilibre de pression entre l'éprouvette contenant la solution de potasse et l'intérieur du verre de conserve.

Cet appareil permet de placer les tubes de culture ou les boîtes de Petri ensemencés dans un vide pratiquement parfait et de les y laisser pendant plusieurs jours et même des semaines, tout en permettant de les observer et de suivre l'évolution des colonies. Ce dispositif peut être placé à l'intérieur d'une étuve chauffée et le thermomètre fixé dans le verre de conserve permet de contrôler à chaque moment la température de croissance des cultures.

Les milieux de culture utilisés au cours de notre travail ont été en première ligne ceux habituellement employés en microbiologie :

Bouillon de viande, Milieu T, Bouillon Martin simple ou glucosé pour les substrats liquides.

Gélose ordinaire ou glucosée, Gélose glucosé-glycérinée, Gélatine glucosée pour les milieux solides.

A côté de ces substrats de culture habituels, nous avons été souvent obligé d'avoir recours à des milieux spéciaux. Pour l'étude des organismes thermophiles provenant des conserves

de viande, nous avons employé *le bouillon de foie*, qui se prépare de la façon suivante :

On porte 500 gr. de foie de bœuf ou de veau finement haché à l'ébullition dans un litre d'eau pendant une heure à deux heures. Puis on filtre à travers une toile pour recueillir le filtrat que l'on ramène à 1000 cc. On y introduit alors :

Peptone.	10 gr.
Phosphate acide de potassium..	1 gr.

On ajuste le pH du mélange à 7,0 et on répartit le milieu dans des tubes de culture à raison de 5 cc. Dans chaque tube, on ajoute encore une faible quantité de foie bouilli et finement broyé et on stérilise le tout à + 120° pendant 20 minutes.

Pour la recherche des organismes qui ont la propriété de réduire les nitrates et que l'on trouve très fréquemment dans les conserves de viande, on est obligé d'avoir à sa disposition un *milieu au nitrate.*

Il est naturellement très important que le nitrate de potassium employé pour la préparation du milieu soit chimiquement pur et absolument exempt de nitrite.

On prépare ce milieu au moyen de :

Peptone.	1 gr. 50
Extrait de viande.	5 gr.
Nitrate de Potassium pur.....	0 gr. 25
Eau distillée.	1000 cc.

On stérilise à 120° pendant vingt minutes après avoir réparti en tubes à raison de 10 cc.

Il faut contrôler l'eau distillée employée pour s'assurer qu'elle ne contient pas de nitrite, car cette substance est souvent présente dans l'eau ayant séjournée dans le laboratoire, surtout lorsque les chercheurs ont l'habitude de fumer.

Un autre milieu spécial, réservé pour l'étude des bactéries qui entraînent l'altération des boîtes de conserve même, par suite de la formation de sulfite, est le *milieu au sulfite de fer.*

On le prépare de la façon suivante :

Sulfite de sodium.	1 gr.
Saccharose.....	30 gr.
Gélose.	15 gr.
Bouillon de viande.....	1000 gr.

On fait dissoudre à la chaleur et on ajuste le pH à 7,0. Puis on répartit en tubes à raison de 10 cc.

Dans chaque tube, on place un morceau de gros fil de fer d'environ 20 mm de longueur ou un clou. Le fer doit être complètement immergé dans le milieu et il doit être exempt de graisse. Dans ce but, on le lave au préalable dans du tetrachlorure de carbone ou dans un autre solvant approprié, puis on le passe rapidement dans de l'acide chlorhydrique dilué et finalement on le lave à l'eau distillée.

Pour quelques germes on a avantage d'utiliser à la place du bouillon de viande une *macération de levure.*

On fait digérer dans un autoclave à + 120° pendant cinq heures une suspension à 10% de levure exempte d'ammoniaque dans de l'eau distillée. On laisse alors reposer pendant cinq à six jours, jusqu'à ce que le liquide surnageant soit limpide, on le sépare par siphonage et on l'emploie sans filtration.

Milieux pour l'étude des anaérobies.

On peut diviser ces milieux en deux catégories :

Les milieux pour les anaérobies mésophiles et ceux pour les anaérobies thermophiles.

Dans la première catégorie on peut recommander le *milieu de Holman à la viande cuite* (7).

On le prépare à partir de viande fraîche de bœuf exempte de graisses et de tendons. La viande est hachée et broyés, puis on la fait macérer dans un volume égal d'eau.

On la porte lentement à l'ébullition en agitant constamment afin de réaliser la coagulation des albumines solubles. Ces substances constituent un milieu très favorable pour les anaérobies, comme Tarozzi (8) l'a démontré. L'émulsion ainsi obtenue est alors légèrement alcalinisée à la phénolphtaléine. Puis on la répartit dans des tubes de culture à raison de 10 cc et on passe à l'autoclave à + 115° pendant 30 minutes.

Dans la seconde catégorie des milieux pour anaérobies, nous citons le *milieu au maïs et au foie.*

Ce milieu est employé pour la différenciation des anaérobies thermophiles ne produisant pas d'hydrogène sulfuré. Mac Clung et Mecoy (9), donnent la technique suivante pour sa préparation :

Le milieu est obtenu en partant de maïs entier broyé, de foie desséché et d'eau. La proportion de foie est de 1 à 2%.

On part de foie broyé qui a été infusé et séché entre 55 à 60°.

D'autre part, on y introduit 5% de tourteau de maïs que l'on traîte par la vapeur. Le mélange est ensuite refroidi et introduit dans des tubes.

Le milieu de consistance visqueuse obtenu dans ces conditions demande beaucoup de précautions pour sa stérilisation ; l'opération s'effectue par passage à l'autoclave, sous une pression de 1 à 1,1 kg/cc. et pendant une durée de deux heures. Après la stérilisation, il faut réduire la pression de l'autoclave avec beaucoup de prudence et lentement, afin d'éviter la projection des bouchons de coton fermant les tubes.

Ce milieu peut être directement employé tel quel pour l'ensemencement sans chauffage et liquéfaction préalable, les cultures en anaérobiose sont possibles sans emploi d'un dispositif particulier et les anaérobies s'y développent à condition d'ensemencer dans des tubes renfermant le milieu à une hauteur de 5 cm au moins.

Les cultures positives se reconnaissent par l'apparition de gaz avec ou sans digestion et avec modification de la réaction du milieu.

Le milieu complémentaire destiné à la recherche des anaérobies thermophiles, produisant de l'hydrogène sulfuré est formé par la *Gélose au sulfite.*

Il se prépare en ajoutant 0,1% de sulfite de soude et 3% de saccharose à de la Gélose préparée à l'aide d'eau de levure.

Au moment du remplissage des tubes, on y introduit un morceau de fil de fer ou de clou. La macération des levures et la préparation du milieu a lieu suivant les principes que nous avons précédemment indiqués.

Ce milieu est d'une conservation de courte durée et son âge ne doit pas dépasser une huitaine de jours.

Dans ce milieu, la présence d'organismes produisant des sulfures se manifeste par la formation de colonies noirâtres. Par contre, par suite de la solubilité de l'hydrogène sulfuré et de sa fixation par le fer, il n'y a pas de dégagement de gaz.

D'autre part, les bactéries ne produisant pas de gaz sulfuré, mais de l'hydrogène, celui-ci décompose la gélose et réduit le sulfite, entraînant le noircissement général du milieu, bien caractéristique et se différenciant nettement des colonies noirâtres et isolées des organismes émettant de l'hydrogène sulfuré.

C'est à l'aide de ces différents milieux que nous avons effectué nos recherches, dont nous donnons plus loin la description.

CHAPITRE III

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES CAUSES D'ALTÉRATION DES CONSERVES DE VIANDE ET D'ABATS

Dans la fabrication des conserves de viande et d'abats, le chimiste-biologiste doit surtout prendre en considération que ces produits organiques pouvant engendrer des maladies très graves, peuvent être divisés en deux grandes catégories :

Les intoxications alimentaires endogènes, produites par des conserves directement par suite d'une action toxique du produit alimentaire même, qui macroscopiquement ou biologiquement présente des modifications nuisibles.

Les intoxications alimentaires exogènes occasionnées par des conserves apparamment saines, mais contenant des poisons qui se manifestent seulement après l'action des sucs du tube digestif.

C'est cette dernière catégorie de conserves de viande qui est sûrement la plus dangereuse, puisque le consommateur est dans l'impossibilité de diagnostiquer par ses propres moyens le danger qu'il court en absorbant ces aliments. L'homme de laboratoire qui surveille la fabrication a donc ici une responsabilité beaucoup plus marquée.

En examinant cette question à fond, nous croyons pouvoir classer les causes de ces intoxications exogènes de la façon suivante :

1° Les toxines chimiques.

2° Les toxines bactériennes.

Les toxiques chimiques ne nous intéressent pas dans ce travail, c'est pour cela que nous n'y insisterons que passagèrement. Ces substances peuvent être incorporées dans les conserves de viande et d'abats de deux manières : La préparation des aliments peut avoir été effectuée dans des récipients ne se prêtant pas à cette fabrication et des éléments comme le cuivre, l'antimoine, le plomb, peuvent produire les intoxications.

D'autre part, les saumures, les sauces, les gelées qui sont utilisées pour relever les conserves d'abats, peuvent occasionner des maladies. Ainsi, Bruce White et Savage (10) signalent un empoisonnement à la suite de consommation de rôti de mouton farcis, dû à la présence de feuilles de belladone, utilisées pour la préparation de la farce et confondues avec des feuilles de sauge. Des intoxications arsenicales ont été signalées, surtout en Angleterre, par l'emploi de produits chimiques insuffisamment purifiés.

Un autre moyen d'intoxication exogène chimique peut se produire par l'absorption de substances toxiques avec les aliments que l'animal vivant consomme avant l'abattage. Ces substances peuvent empoisonner la viande et les abats sans avoir eu un effet nuisible directement sur l'animal vivant.

Nous pouvons distinguer pour ces cas aussi différents groupes d'intoxication.

Les animaux peuvent avoir consommé des plantes dangereuses, tels que la colchique, des lupins, des équisetums, du genêt, du ricin, des haricots, des tourteaux d'huile de moutarde, des champignons toxiques, etc... Ostertag mentionne de nombreux cas de ce genre.

Mais les animaux de boucherie peuvent aussi avoir consommé soit accidentellement, soit par l'administration de médicaments, des doses de poisons minéraux ou organiques, n'ayant eu aucune influence nuisible sur l'animal ou ayant même agi chez lui comme médicament favorable, alors que les doses localisées dans les muscles et les boyaux occasionnent des troubles graves chez l'homme qui les consomme. Dans cet ordre d'idées, nous pouvons citer : le plomb, le phosphore, l'arsenic, le mercure, l'émétique d'un côté, la strychnine, l'atropine, la scopolamine, la choline, la muscarine de l'autre côté.

Ces trois catégories d'empoisonnements par des toxiques chimiques doivent donc toujours attirer l'attention du chimiste-

biologiste dirigeant la fabrication de produits de conserves à base de viande. Mais les dangers des toxines bactériennes sont sûrement beaucoup plus fréquents et ce sont ces phénomènes qui nous ont principalement intéressé pendant l'élaboration de notre travail.

Les intoxications exogènes, dues à des conserves de viande et d'abats apparamment saines au moment de la consommation et résultant de l'existence de toxines bactériennes sont imputables à quatre sortes de facteurs :

Nous envisageons à ce point de vue :

1° Les bactéries pathogènes ayant rendu l'animal malade avant son abatage. Nous citons comme exemples : le charbon, le rouget du porc (érysipéloïde), la tuberculose.

2° Les bactéries pathogènes dans ou sur la viande, n'ayant pas rendu malade l'animal avant son abatage ; il s'agit donc de bactéries pathogènes pour l'homme, mais non virulentes pour les animaux. Le Bacillus enteritidis Gartner, peut servir de type pour cette catégorie d'organismes.

3° Les bactéries pathogènes ayant pollué la viande après l'abatage des animaux de boucherie.

Dans ce genre de maladies, nous trouvons principalement des bactéries à spores centrales ou subterminales, tels que les Vibrion septique, les Sporogènes, les Proteus, etc...

4° Les bactéries non directement pathogènes, mais fabriquant des toxines après multiplication dans le tube digestif. On remarque toute de suite que les maladies occasionnées par ces organismes exigent un temps d'incubation plus ou moins long, pour se manifester après l'ingestion des conserves de viande.

Les agents de ces maladies peuvent être groupés dans deux catégories :

a) Les bactéries devenant toxiques par l'action de leurs endotoxines, tels que les Salmonella. Ces germes sont donc nécessairement présents et préexistent dans les conserves avant l'ouverture de la boïte. Il s'agit d'un défaut de stérilisation ou d'une défectuosité dans la fermeture de la boîte de conserve.

b) Les bactéries agissant par la secrétion d'exotoxines. Dans ces cas, la stérilisation et la fermeture des boîtes de conserves

sont impeccables, mais les bactéries préexistaient dans la viande avant les manipulations de conserverie et l'élaboration des toxines avait eu lieu à l'état vivant de l'animal ou pendant la période de l'abatage et les préparations de conservation proprement dites.

Nous pouvons distinguer ici aussi deux sortes de germes, dont nous citons pour la première catégorie les Staphylocoques et pour la deuxième le Bacillus botulinus.

En considération de ces faits, nous pouvons donc envisager la classification suivante des maladies qui résultent de la consommation de conserves de viande avariées :

1° L'intoxication alimentaire endogène, cas pour lequel la conserve même est altérée et joue le rôle de poison.

2° L'intoxication alimentaire exogène, résultant de l'ingestion de conserves apparemment saines et normales au point de vue aspect extérieur et goût. Ces maladies peuvent être dues :

a) A des toxines chimiques ;

b) A des toxines bactériennes préformées ;

c) A des toxines bactériennes élaborées *in vivo* après l'ingestion des conserves et dues à la multiplication *in situ* de quelques microorganismes avalés avec les conserves.

d) A des bactéries mêmes, polluant les conserves à l'état de spores ou de vie ralentie, germes ayant été absorbés avec l'aliment conservé et agissant par leur action pathogène directe.

Il faut donc que les fabricants de conserves de viande ou d'abats de viande prennent en considération ces quatre moyens d'altération de leurs produits et qu'ils s'organisent pour réaliser toutes les précautions nécessaires afin de sauvegarder la stérilité de la viande utilisée et d'éviter toute contamination par des produits toxiques.

Nous aurons l'occasion, au cours de nos travaux personnels, d'étudier les différents facteurs qui peuvent intervenir dans la fabrication des conserves de viande pour occasionner l'altération et la toxicité de ces produits alimentaires.

CHAPITRE IV

REVUE DES PRINCIPALES BACTÉRIES SUSCEPTIBLES D'ALTÉRER LES CONSERVES DE VIANDE ET D'ABATS APRÈS L'ABATAGE DES ANIMAUX DE BOUCHERIE

Les bactéries pathogènes qui rendent les animaux malades avant leur abatage ne nous intéressent pas directement dans le cadre de notre travail. Le service de l'inspection des viandes dans les abattoirs et surtout dans les fabriques de conserves de viande est actuellement en France rigoureusement organisé, de sorte qu'il n'arrive que très rarement qu'un tel cas puisse échapper au contrôle sévère du vétérinaire.

A. Sartory et J. Meyer (11), ont eu l'occasion pendant la guerre de 1939, de déceler un cas de ce genre pour un lot de conserves de langues, qui était contaminé par un organisme de la famille des Actinomycétacées.

Nous nous voyons obligé pour l'élaboration de notre travail de retenir essentiellement deux groupes d'altération des conserves :

Les altérations occasionnées par des bactéries pathogènes polluant la viande après l'abatage.

Les altérations occasionnées par des bactéries nuisibles seulement par leurs toxines agissant après le passage de l'estomac humain et par multiplication des bactéries dans les intestins.

Dans l'historique de son travail sur la flore microbiologique des conserves de viande et d'abats, Nached (13), envisage

une grande quantité de microorganismes, qui ont été isolés dans ces dernières années de conserves avariées.

Il cite des travaux sur des bactéries thermophiles protéolytiques ou cellulosolytiques, qui ont été trouvées dans les conserves altérées. Tous ces organismes n'ont cependant aucune relation avec le sujet qui nous intéresse, car il s'agit dans la description de Nached d'organismes qui altèrent les conserves de façon à ce que leur présentation macroscopique, leur aspect, leur odeur et leur consistance soient modifiés au moment de l'ouverture de la boîte de conserve. Ces microorganismes sont donc nuisibles à l'industrie des conserves même, mais ils ne peuvent pas être considérés comme dangereux pour la consommation humaine.

Les bactéries véritablement dangereuses pour la consommation des conserves et qui nous intéressent spécialement, peuvent être examinées selon les indications que nous avons donné ci-dessus, et on peut les étudier dans l'ordre suivant :

Les bactéries dangereuses pour la conserverie par leurs endotoxines : groupe de Salmonella.

Les bactéries dangereuses pour la conserverie par leurs exotoxines : groupe des Staphylocoques.

groupe du Bacillus botulinus.

Les bactéries dangereuses pour la conserverie par leurs actions pathogènes directes, et munies d'une thermorésistance marquée par l'existence de spores :

Le groupe des microbes anaérobies à spore centrale ou subterminale.

Le groupe des Salmonella.

Nous dirons, tout d'abord, quelques mots sur le groupe des Salmonella, organismes actuellement bien étudiés, que l'on trouve exposés d'une façon magistrale dans la plupart des traités généraux de bactériologie.

Les organismes qui sont assez souvent à l'origine des accidents d'intoxications alimentaires peuvent appartenir au genre Salmonella et d'après Bergey (14), on peut énumérer à ce sujet, les espèces suivantes :

Salmonella anatis Rettger et Scoville.

Salmonella Aetrycke de Nobele.

Salmonella Archibaldi Castellani et Chalmers.

Salmonella abortivo-equina Good et Corbett.
Salmonella columbensis Castellani et Chalmers.
Salmonella enteritidis Gaertner.
Salmonella fœtida Perez.
Salmonella gallinarum Klein.
Salmonella Hirschfeldii Weldin.
Salmonella icteroïdes Sanarelli.
Salmonella Morganii Winslow.
Salmonella paratyphosi A. Kayser.
Salmonella parathyposi B. Kayser.
Salmonella psittaconis Nocard.
Salmonella pullorum Rettger.
Salmonella Schottmuellerii Winslow.
Salmonella typhi-murium Loeffler.
Salmonella suipestifer Kouse.
Salmonella veboda Castellani.
Salmonella watareka Castellani et Chalmers.
Salmonella woliniac Castellani et Chalmers.

Parmi tous ces microorganismes, ceux qui occasionnent le plus fréquemment des accidents d'intoxications alimentaires, il faut retenir les espèces :

Paratyphosus A et B , Aetrycke, enteritidis et suipestifer.

Nous savons que toutes ces Salmonella possèdent sensiblement les mêmes caractères morphologiques et on ne peut les différencier avec certitude que par les réactions sérologiques.

Les intoxications provoquées par ces organismes peuvent se produire par deux voies différentes. L'organisme lui-même peut être présent sous sa forme végétative ; ce sont cependant les cas les plus exceptionnels.

Le plus souvent, le microbe produit une toxine présente dans l'aliment et l'organisme lui-même a été détruit par la stérilisation préalable à l'autoclave.

Savage (15), écrit :

« Lorsque la maladie résulte de la consommation d'aliments de conserve, la caractéristique de l'intoxication est que, dans la presque totalité des cas, elle est duc à des toxines et non aux bacilles eux-mêmes. »

Il attribue ces accidents au fait que le « mode de préparation de ces produits de conserve permet de détruire les bacilles non producteurs de spores, comme les membres du groupe

Salmonella, mais ne permet pas de détruire les toxines qui sont reconnues comme possédant une résistance remarquable à la chaleur. Sur cinquante et un cas d'intoxication qui ont pu être attribués à des aliments de conserve, il a constaté que seize cas étaient dus à des bacilles vivants, vingt-sept aux toxines du groupe *Salmonella* et neuf à une cause indéterminable. »

Caractéristiques différencielles des organismes du genre Salmonella

Jones (2), écrit que les caractéristiques morphologiques de tous les organismes du groupe *Salmonella* sont les mêmes, de telle sorte que par les méthodes ordinaires d'investigation, il n'est pas possible de différencier les espèces.

« Une identification positive ne peut être réalisée que par l'emploi de tests sérologiques qui naturellement obligent à utiliser comme sujets des animaux vivants. »

Mais il existe un certain nombre de réactions caractéristiques qui permettent de déterminer avec certitude que des organismes du genre *Salmonella* sont présents dans les produits de conserve à examiner, sans en pouvoir préciser l'espèce.

Jones donne à ce sujet les renseignements suivants :

« *Habitat* : La majorité des membres du groupe *Salmonella* existe dans le canal intestinal des animaux vivants. Il faut donc, au moment de l'abatage des bêtes, s'assurer que le contenu de l'intestin ne vienne pas polluer la viande de boucherie.

Sporulation : aucun des membres du groupe n'est porteur de spores.

Mobilité : il subsiste un certain doute en ce qui concerne la mobilité de certains membres du groupe, mais la majorité est certainement mobile et possède quatre ou cinq flagellas. Il est possible que la propriété de se mouvoir dépende de l'âge des cultures.

Ces organismes se développent facilement dans tous les milieux, comme le bouillon nutritif, la gélose et la gélatine. L'incubation doit être effectuée à + 37° pour réaliser les conditions optima. En outre, la réaction du milieu doit être réglée à pH = 7,0 (neutralité).

L'aspect des colonies sur plaques de gélose ou de gélatine est le même : pellicule mince, presque transparente, de coloration blanc-gris. Aucune liquéfaction de la gélatine ne se produit.

Le bouillon nutritif est rendu uniformément nuageux, mais il n'apparaît pas d'écume, même dans les cultures âgées.

Dans le lait tournesolé, il y a d'abord apparition d'une légère acidité, généralement pendant les 24 premières heures de l'incubation, mais sans qu'il y ait coagulation de la caséïne, l'acidité est bientôt remplacée, à la fin d'une période de 48 heures, par une alcalinité permanente. On a vu dans certains cas que ce passage de l'acidité à l'alcalinité ne se produisait qu'au bout de plusieurs jours ou même de plusieurs semaines.

Fermentation : tous les membres du groupe *Salmonella* font fermenter le glucose et un petit nombre d'entre eux la dulcite, mais ils sont sans action sur le lactose et le saccharose.

Réaction de l'indol : négative.

Réaction de Voges-Proskœur : négative.

Cette réaction est des plus utiles pour différencier les organismes du groupe *B. lactis aérogènes* et les *B. coli* ; ces derniers ne donnant pas de réaction. Pour procéder à cet essai, l'organisme est cultivé dans un bouillon glucosé. Après 48 heures d'incubation, on ajoute environ 0,5 cc^3 d'une solution de potasse caustique, une fluorescence rouge apparaît lentement si la réaction est positive. D'après HARDEN, la production de la coloration est due à la formation d'*acéthyl-méthyl-carbinol* qui, en présence de potasse caustique est oxydé par l'oxygène atmosphérique et transformé en diacétyl ; celui-ci réagit avec un constituant inconnu de la peptone, pour donner une coloration analogue à celle de l'éosine. »

THRESH, BEALE et SUCKLING (16), déclarent cependant qu'il ne faudrait pas attacher une valeur absolue aux réactions de fermentation. En ce qui concerne la dulcite, en particulier, BRUCE WHITE (1929), a signalé que certaines souches de *Salmonella Aertrycke* et de *S. enteritidis* et la plupart des souches de *S. suipestifer* ne font pas fermenter la dulcite, tandis que d'autres, comme le *Salmonella paratyphosus A* font fermenter ce sucre lentement.

Comportement vis-à-vis de l'oxygène : Aérobies facultatifs.

En ce qui concerne la température à laquelle ces organismes sont détruits, on ne perdra pas de vue que des travaux récents effectués aux Etats-Unis et dans d'autres pays, ont montré que la température à laquelle il faut élever une culture pour détruire les organismes et la durée de chauffage dépendent

des conditions du milieu et que les indications publiées sur cette question ont besoin d'être contrôlées. La présence de bactéries vivantes, d'espèces ne formant pas de spores, dans des boîtes de conserves, soumises cependant à des températures élevées, renforce ce point de vue. »

C'est donc cette question que nous avons essayé d'élucider au cours de notre travail.

Bactéries dangereuses pour la conserverie par leurs exotoxines

Le groupe des Staphylocoques.

Nous avons vu antérieurement que certains accidents dus à la consommation de conserves de viande proviennent non pas de la présence directe de bactéries vivantes dans ces produits, mais de l'existence de toxines, secrétées par ces bactéries dans la matière conservée à une période antérieure à la mise en conserve. Il s'agit donc d'exotoxines microbiennes fortement thermostables.

Or, au cours de ces dernières années, on a observé, aussi bien en Amérique qu'en Europe, de nombreux cas de maladies résultant de la consommation de produits alimentaires. et on a constaté que ces accidents étaient dus à une contamination du produit par un Staphylocoque, producteur de toxines.

Ces cas ont été observés après la consommation de produits les plus divers, tels que crème glacée, gâteaux, bouillon, langue de bœuf conservée, conserves de crevettes, viandes cuites et conservées, etc... Les symptômes de cette intoxication sont au début de la maladie, en général, très graves et rappellent parfois ceux du botulisme. Mais on n'a jamais pu observer jusqu'à présent de cas mortels. La maladie ne se prolonge d'habitude pas au-delà de 24 heures ; le malade reprend rapidement un état de santé normal sans qu'une intervention médicale sérieuse ne soit nécessaire.

Dans tous les cas, il s'agit d'une toxine extracellulaire, car on a pu faire la preuve de son existence dans le milieu après séparation des organismes cultivés à partir des prélèvements pathologiques par filtration.

Nous savons actuellement que les filtrats de cultures de Staphylocoques âgées ou cultivées sur bouillon Martin glucosé sont toxiques pour la plupart des animaux de laboratoire. D'après les travaux de Nicolle (17) et Césari, les filtrats ainsi obtenus renferment plusieurs toxines : entre autres, il y

a une hémolysine attaquant le stroma globulaire et mettant en liberté l'hémoglobine. Celle-ci est aussi transformée par une autre toxine avec formation d'oxyhémoglobine.

Van de Velde a démontré l'existence d'une toxine détruisant les leucocytes et à laquelle il a donné le nom de leucocidine.

De nombreux travaux ont été effectués à ce point de vue par une pléiade de chercheurs, dont nous citons : Walbum, Parker, Gross, Gunther, Gengou, Burnet, Ramon, Bocage, etc...

Dans les cas d'intoxication alimentaire, il n'a pas été possible jusqu'à présent, d'établir si la toxine était produite par un type particulier de Staphylocoque ou par plusieurs types suivant les conditions de l'habitat, pas plus qu'il n'a été possible de déterminer avec certitude la température à laquelle ces toxines sont détruites.

Dolman (18) a pu mettre en évidence l'existence d'au moins deux toxines, dont l'une est détruite par chauffage à une température plus basse que l'autre. Mais ce qui reste encore inconnu, ce sont les sources possibles de l'infection des conserves et les conditions qui sont nécessaires pour favoriser la formation des toxines.

Le botulisme.

Malgré la grande différence entre le groupe des *Staphylocoques* et celui du *Clostridium botulinum* au point de vue systématique bactériologique, nous croyons utile d'exposer la question du *Botulisme* ici, étant donné que les intoxications et les accidents alimentaires résultant de l'ingestion de conserves contaminées par cette bactérie, proviennent de l'existence des exotoxines secrétées par le *Clostridium botulinum.*

Le fait que cet organisme est muni de spores, particulièrement résistantes à la chaleur, qu'il est en plus un microbe anaérobie, lui confère une protection particulièrement efficace contre les agents physiques, lorsqu'il est présent dans des boîtes de conserves, où les conditions de culture lui sont par conséquent très favorables.

Heureusement, les cas de botulisme franchement définis, sont assez rares et on a constaté que ce terme est à tort étendu à des cas d'intoxication alimentaire pour lesquels la présence du *Clostridium botulinum* était très douteuse.

Il est impossible de citer ici toutes les observations du botulisme relatées dans la littérature ; nous nous bornerons à mentionner les principaux aliments responsables de l'intoxication botulinique, pendant une période de trente ans, d'après les travaux de KNORR (19).

Au début, on n'incriminait que les conserves carnées, et spécialement le boudin, surtout le boudin enveloppé dans de grandes enveloppes, les saucisses, le jambon, les pâtés de viande, de gibier. Plus tard, on observa des cas identiques avec les poissons. Mais, comme le fait remarquer P.-L. MARIE (20) : « Le dogme de l'innocence des conserves tirées du règne végétal n'a pas survécu aux travaux américains récents. » Les observations de DICKSON (21), THOM (22), RANDALL (23), EMERSON, l'ont bien mis en évidence.

Nous donnons ci-dessous la liste des cas décrits dans les derniers trente ans. (Voir BIDAULT) (1).

Jambon (SCHUMACHER, 1913 ; ORNSTEIN, 1913 ; BURGER 1913 ; MATTHES, 1919 ; BITTER, 1919 ; SEIDELMANN, 1923 ; SCHEDE 1916 ; WEIGELDT, 1924).

Viande fumée (SEMERSON et NOACK, 1917).

Saucisson de cheval (BITTDORF, 1919).

Boudin (BURGER, 1913).

Conserves de saucisson de foie (DORENDORF, 1917, NONNENBUCK, 1917).

Saucisson de foie (WIENER, 1919).

Viande de porc rôtie (BURGER, 1913).

Viande de chevreuil (WIENER, 1919).

Pâté de canard sauvage (MONRO et KNOX, 1923).

Hâchis de volaille (STILES, 1913).

Conserves de saumon (MOREL et SAINT-MARTIN, 1922 ; SIEBER, 1921 ; PISANI, 1922).

Maquereaux, harengs saurs (BITTER, 1921).

Harengs frits (WIENER, 1919).

Haricots de conserve (DICKSON, 1918 ; WILBUR et OPHULS, 1914 ; WAGNER, 1923 ; MAX CASKEY, 1919).

Conserves d'épinards (BEALL, 1922 ; CORBUS, WELLS et CURRIER, 1923 ; DICKSON, 1918 ; KOSER, EDMONSON et GILTNER, 1921).

---

(1) BIDAULT ; Conserves de la viande et du poisson (*Encycl. de Chimie industrielle*) du Pr. Matignon, Baillière édit. Paris 1927.

Olives mûres en conserve (Armstrong, Story et Scott, 1919).

Conserves d'asperges (Dickson, 1918 ; Thom, Edmonson et Giltner, 1919).

Besse (Mangold, Mac Caskey, 1919).

Abricots en conserves (Dickson, 1918).

Betteraves en conserve (Whiteman et Wilkinson, 1922).

Oignons (Koser et Reiter, 1929).

Homard, fromage (Nevin, 1930).

Quant à la résistance des spores, les travaux de Weinberg et Ginsbourg (25), ont montré qu'elle dépend de facteurs multiples. Il n'est donc pas étonnant que les renseignements apportés par différents auteurs ne soient pas toujours concordants.

Nous donnons, à titre documentaire une liste tirée de travaux basés sur un très grand nombre d'expériences à ce sujet.

La spore du *Clostridium botulinum* résiste au maximum en milieu humide :

A 100° :	300	minutes	(Dubovsky et Meyer, 1922).
	300	—	(Tanner et Mac Crea, 1923).
	300	—	(Weiss, 1921).
	330	—	(Esty, 1933 ; Esty et Meyer, 1922).
	360	—	(Dickson, Burke, Beck, Johnston et King, 1922).
A 105°	40	—	(Weiss, 1921).
	80	—	(Esty et Meyer, 1922).
	110	—	(Esty, 1923).
	120	—	(Tanner et Mac Crea, 1923).
A 120°	4	—	(Esty et Meyer, 1922).
	6	—	(Weiss, 1921).
	10	—	(Tanner et Mac Crea, 1923).

Il est donc évident qu'il faut chauffer au moins six heures à 100° pour avoir la certitude d'avoir détruit toutes les spores du *Clostridium botulinum*. D'après Burke (26) cependant, seule la stérilisation par chauffage sous pression permet de tuer à coup sûr toutes les spores.

Les spores ayant survécu au chauffage sont quelquefois très longues à germer. La période latente qui s'écoule jusqu'à

leur germination est proportionnelle au degré de température à laquelle elles ont été soumises. Burke a vu des spores chauffées germer au 53e jour, la plus longue incubation observée est de 378 jours par Esty et Meyer.

Ces faits montrent que les conserves alimentaires, même dûment stérilisées par chauffage, ne doivent être livrées à la consommation qu'après une longue observation.

Faisons encore observer que dans la préparation industrielle des conserves alimentaires, il faut tenir compte de la transmission de la chaleur dans les boîtes. Celles-ci dépend de la nature de la denrée, de sa densité, de sa conductibilité thermique et de la facilité avec laquelle s'établissent les courants chauds. Voici un exemple donné par Bidault (1927) :

Deux boîtes de conserve de mêmes dimensions, l'une de bœuf, l'autre de petits pois, placées à l'autoclave à + 115°, accusent la même température de + 110°, la première après 50 minutes de chauffage, la seconde dans un temps moitié moindre.

Enfin, un fait curieux vient d'être observé par deux auteurs américains, Meyer (27) et Lang (1926) : la résistance à la chaleur de la spore botulinique est nettement renforcée par l'association du *Clostridium botulinum* avec un microbe qu'ils ont trouvé dans des boîtes de conserves et auquel ils ont donné le nom de *Bacillus caloritolerans*. Ce dernier n'est pas détruit par 510 minutes d'ébullition. Or, Meyer et Lang ont constaté que les spores botuliniques, dont la résistance maxima est de 360 minutes à + 100°, peuvent supporter jusqu'à 470 minutes d'ébullition, lorsque le *Clostridium botulinum* a vécu en symbiose avec cette nouvelle espèce. Au point de vue industriel, les déductions pratiques de la résistance des spores ont été bien étudiées dans un rapport d'ensemble par Ball (1923) (28), dont nous citerons, à titre d'indication, les principales conclusions qui varient suivant les différents aliments à conserver et, suivant les dimensions, l'épaisseur et la nature des boîtes.

Pour les épinards : boîte 2, contenance maxima 375 grammes, il faut chauffer 15 minutes à + 122° ; boîte 10, contenance maxima 1.850 grammes, il faut chauffer 50 minutes à + 122°.

Pour les olives : boîte de toutes dimensions (n° 1 à 10), il faut chauffer 50 minutes à + 121° ou 60 minutes à + 115°.

Pour les sardines : boîtes ovales, contenance maxima 430 grammes, il faut chauffer 50 minutes à + 115°.

Les toxines du Clostridium botulinum.

Etant donné l'importance du rôle des *toxines* secrétées par le *Clostridium botulinum* dans les cas d'intoxication alimentaire, nous tenons à donner ici encore quelques renseignements sur nos connaissances actuelles à ce point de vue.

La toxine du *Clostridium botulinum* peut être produite quand le bacille se développe dans les milieux de culture qui lui conviennent, sous une anaérobiose stricte, à une température comprise entre 18° et 37°. La toxine botulinique est une neurotoxine. A de nombreux points de vue, elle présente des analogies avec la toxine diphtéritique et surtout avec la toxine tétanique, mais elle en diffère notamment par le fait qu'elle n'est pas détruite par l'action du suc gastrique.

Résistance de la toxine botulinique à la chaleur.

La toxine est, en général, beaucoup moins résistante à la chaleur humide que les spores. Cependant Bengston (29), a trouvé un *Clostridium botulinum* désigné par lui par la *lettre C*, dont la toxine n'a été complètement détruite qu'après chauffage de 90 minutes à + 100°. Les mêmes auteurs ont trouvé que les souches protéolytiques donnent une toxine beaucoup moins résistante que les souches non-protéolytiques. On peut se faire une idée sur la thermorésistance de cette toxine par les résultats suivants : à la température de + 80°, la toxine est encore entièrement active :

Après 5 minutes	de chauffage	d'après Orr (30).
— 6	—	Schonholz et Meyer (31).
— 30	—	Armstrong, Story et Scott (32).
— 60	—	Tanner et Twohey (33).

On voit donc que le maximum nécessaire pour détruire la toxine par la chaleur est bien en-dessous de la température à laquelle on inhibe la vie des spores. En tuant les spores, on désintoxique en même temps les cultures ou les conserves alimentaires.

Tanner et Twohey se sont mis dans les conditions de la ménagère, qui fait bouillir des aliments de conserve dans une

casserole : les pommes de terre, les petits pois, les asperges et la confiture ont été désintoxiqué en 10 à 15 minutes ; les haricots verts, le saumon, le blé, la betterave, la viande se montrèrent encore toxiques après 20 minutes d'ébullition.

Ces mêmes auteurs citent un exemple qui montre l'importance de l'ébullition préalable de conserves alimentaires. Une ménagère de Glenade (Californie), goûte une boîte de conserves de haricots verts, puis les fait bouillir pendant dix minutes avant de les servir à son mari et à ses enfants. Le mari et les enfants n'ont ressenti aucun trouble, la mère est morte d'intoxication botulinique en mars 1926.

D'après Sommer (34), la purification des toxines n'accroît pas leur thermostabilité.

La toxine botulinique peut être précipitée par le Sulfate d'ammonium. Sommer et Meyer (34) emploient, dans ce but, le procédé indiqué par Willstaetter pour la précipitation des enzymes.

La Toxine sèche est une poudre brune avec laquelle les réactions du biuret de Millon, la diazo-réaction, etc., sont encore positives. On n'y a pas constaté d'acides aminés libres. Certains échantillons possèdent encore des propriétés protéolytiques marquées :

Liquéfaction de la gélatine, augmentation du taux de l'Azote aminé aux dépens de la peptone de Witte. On n'a jamais trouvé d'uréase.

Tous ces faits prouvent que la toxine ainsi obtenue est complexe et de composition variable suivant les échantillons.

Résistance de la toxine botulinique aux autres agents physiques et chimiques.

La toxine botulinique résiste 90 à 188 heures, dans le bouillon simple ou dans les asperges, à la lumière directe et à l'air. A la lumière diffuse, au laboratoire et à l'air, elle commence à faiblir au bout de deux mois et demi. Elle se conserve au moins, d'après Morax, en tubes scellés et à l'abri de la lumière pendant 13 à 14 ans. A la glacière, la durée de sa conservation est de cinq à huit mois, d'après Schonholz et Meyer. Le sérum physiologique altère la toxine, qui se conserve mieux dans l'eau distillée additionnée de bouillon ou de sérum animal.

L'alcool précipite la toxine et l'affaiblit. L'effet est très rapide à l'étude à + 37° (cinq à dix minutes). Si l'alcool est administré immédiatement après l'absorption d'une dose mor-

telle de toxine, l'animal est sauvé. Celui-ci n'est pas protégé, lorsque l'alcool est injecté sous la peau.

La toxine est insoluble dans l'éther et le chloroforme.

L'iode, mélangé avec de l'amidon ou du charbon pour éviter la nécrose des tissus, injecté avec la toxine, protège l'animal. La solution de Gram, administrée immédiatement après la toxine, protège le lapin d'après les expériences de Burke, Elder et Pischel (35).

L'iode et le formol transforment la toxine botulinique en Anatoxine, comme Weinberg et Goy (36), l'ont montré.

Kempner et Schepilewsky (37), avaient déjà observé en 1898 que l'huile émulsionné protège la souris contre deux doses mortelles de toxine. Burke, Elder et Pischel ont confirmé, en 1921, ce fait. Ils ont pu sauver les animaux intoxiqués en leur faisant absorber de l'huile d'olive immédiatement après l'ingestion de toxine.

Par contre, le beurre ne semble pas avoir une action inhibitrice sur la toxine botulinique.

Le permanganate de potasse, la soude, le savon liquide neutralisent la toxine après un certain temps de séjour à l'étuve. Il en est de même pour le vinaigre de vin, dont 3 cc³ protègent le cobaye contre quatre doses mortelles. L'action protectrice est due à l'alcool qui se trouve dans le vinaigre, car l'acide acétique et l'acétate de soude ne neutralisent pas la toxine.

La toxine n'est pas neutralisée par le contact avec le tissu stomacal ou celui de la paroi abdominale du cobaye. La toxine n'est digérée ni par la pepsine, ni par la trypsine.

Meyer et Gunnison (28), ont montré, en 1929 que la croissance du *Clostridium botulinum* dans les fruits acides et la production de la toxine dépendent non pas du bacille adapté au milieu, mais des microorganismes associés, qui ont survécu à la stérilisation incomplète ou ont été introduits après la stérilisation des conserves, et qui fournissent les substances nécessaires à la production de la toxine botulinique.

Francillon (39), a ainsi montré que le *Clostridium botulinum* pousse bien en aérobiose avec le *Staphylococcus pyogènes aureus*, le *Colibacille*, le *Bacillus subtilis*, le *Streptococcus pyogènes*, le *Proteus vulgaris*.

Le *Bacille pyocyanique*, le *Proteus* et le *Colibacille* retardent la prolifération du *Clostridium botulinum* en bouillon glucosé et affaiblissent sa toxine, mais dans les conserves de viande la présence de ces microorganismes aérobies, loin de diminuer

la virulence et la toxicité du *Botulinus*, cette association favorise plutôt le pouvoir pathogène de l'anaérobie et explique ainsi pourquoi des conserves de viande infectées, par différents microbes aérobies peuvent renfermer de la toxine botulinique.

Disons pour terminer que d'après les recherches récentes et surtout celles de Welikanof (40), la sérothérapie du botulisme est réalisée et que l'on doit, sans hésiter, recourir à l'injection de sérum antibotulinique polyvalent, lorsqu'on se trouve en présence d'un cas de botulisme humain. Welikanof a observé en cinq ans, de 1929 à 1934, 194 cas de botulisme causés par l'ingestion de viande, de poisson ou de légumes :

119 cas ont été traités par le sérum bivalent anti-A et anti-B. Les 75 autres cas ont servi de témoins. Sur les 119 cas traités, 24 individus seulement, c'est-à-dire 20 %, sont morts, tandis que sur les 75 malades non traités, on a compté 70 morts, c'est-à-dire 93 %.

Les doses de sérum employées, par voie sous-cutanée, étaient de 60 à 100 cc^3. On peut répéter la même dose au bout de 5 à 10 heures. Dans les cas désespérés Welikanof injectait, avec succès, de 500 à 700 cc^3 de sérum.

CHAPITRE V

LES BACTÉRIES SPOROGÈNES, ANAÉROBIES, THERMORÉSISTANTES DANGEREUSES POUR LA CONSERVERIE PAR LEURS ACTIONS PATHOGÈNES DIRECTES

Nous décrivons, dans ce chapitre, en suivant le plan que nous avons antérieurement établi, le troisième groupe des bactéries dangereuses pour la conserverie par leurs actions pathogènes directes.

Il s'agit, en général, de la grande famille des *Clostridiacées* et, en particulier, de la tribu des *Sporogenidées.*

En considération des derniers grands travaux des bactériologistes américains et des auteurs français : Weinberg, Nativelle et Prévot (41), nous nous croyons en droit pour fixer la position systématique de ces organismes, d'établir en accord avec A. Sartory et J. Meyer, la classification suivante pour ce groupe microbiologique.

Ordre des *Bacillacétales* :

Familles : Bacillacées (aérobies), Clostridiacées (anaérobies).

La famille des *Clostridiacées* peut être divisée de la facon suivante :

A) *Formes Clostridium*, Gram *positives.*

1° Tribu des Clostridiées : (très pathogènes par la secrétion de toxines).

Bâtonnets Gram +, à spore centrale ou subterminale.

Pouvoir protéolytique néant ou réduit.

a) Genre Chauveï (Vibrion septique, Clostr. Chauveï.)

b) Genre Welchii (Bac. perfringens).

c) Genre Novyi (Bac. œdematiens).

d) Genre Botulinus (Bac. botulinus).

2° Tribu des *Sporogénidées* : (moins pathogènes que la tribu précédente).

Bâtonnets GRAM +, à spore centrale ou subterminale.

Pouvoir protéolytique prononcé.

a) Genre Sporogenès.

b) Genre Bifermentans.

B) *Formes Plectridium* : GRAM *positives.*

3° Tribu des *Nicolaiellées* :

Bâtonnets Gram +, à spore terminale.

a) Genre Tetanus (Nicolaiellées pathogènes).

b) Genre Putrificus (Nicolaiellées non pathogènes).

C) *Formes Clostridium ou Plectridium*, GRAM négatives. (Non pathogènes, utiles ou nuisibles dans les industries diverses).

Bâtonnets GRAM négatifs le plus souvent, à spore centrale ou terminale. Pouvoir saccharolytique prononcé.

a) Genre Butyricus (Bac. butyrique et amylobacter).

b) Genre Cellulosolyticus (Bac. cellulosae dissolvens).

c) Genre Pectinolyticus (Bac. felsineus).

Comme le *Clostridium botulinum*, que nous avons envisagé ci-dessus dans le chapitre précédent, tous les autres germes de la famille des *Clostridiacées*, anaérobies et munis de spores excessivement thermorésistantes, peuvent, naturellement, contaminer les conserves. Mais les organismes les plus à craindre, selon les travaux les plus récents, pour la conserverie, doivent être recherchés dans la tribu des *Sporogénidées*, surtout en ce qui concerne les conserves de viande et d'abats. Ceci résulterait du saprophytisme et par conséquent des exigences moindres de ces microbes, qui se rencontrent d'une façon très répandue dans la nature. D'autre part, ces êtres possèdent un pouvoir protéolytiques très prononcé, ce qui leur permet de choisir avec prédilection les substrats protidiques.

Ces bactéries se rencontrent fréquemment dans le sol, dans le fumier, dans les matières fécales de l'homme, dans la viande de boucherie aux premiers stades de la putréfaction. Elles ont été également trouvées dans la flore des plaies de guerre seules, mais le plus souvent associées à d'autres microbes.

Nous les avons divisé en deux genres :

Le genre *Sporogenès* et le genre *Bifermentans*.

Le genre *Sporogenès* comprend outre le *Clostridium sporogenès* et un certain nombre de germes ne se différenciant que très peu de cet anaérobies, deux bactéries importantes : le *Clostridium Sordelli* et le *Clostridium histolyticum*.

L'importance du *Clostridium bifermentans* et des organismes rentrant dans la même tribu pour la préparation et la stérilisation des conserves de viande et d'abats a été démontrée tout récemment par A. Sartory et J. Meyer (11), par Cheftel (42) et par Nached (12). Cette bactérie a d'ailleurs été isolée pour la première fois par Tissier et Martelly (43), en 1902, à partir de viande de boucherie putréfiée.

Les spores des *Sporogénidées* sont particulièrement résistantes vis-à-vis de l'action de la chaleur. En parcourant la littérature, nous avons pu trouver les renseignements suivants :

TABLEAU sur la THERMORESISTANCE de SPORES des SPOROGENIDEES

Clostridium	Auteurs	Degré de température	Temps de séjour	Résultats sur les spores
Sporogenès	Choukevitch	120°	5 minut.	Limite de la vitalité
—	Blanc	100°	60 —	Vitalité conservée
—	Hall	120°	2 —	Vitalité conservée
Sordelli	Weinberg, Davesne et Lefranc	100°	75 —	Limite de la vitalité
—	Hall et Scott	115°	2,30 —	Limite de la vitalité
Histolyticum	Weinberg et Séguin	115°	20 —	Plus de vitalité
—	Weinberg et Séguin	110°	10 —	Vitalité conservée
—	Weinberg et Séguin	100°	60 —	Limite de la vitalité
—	Zeissler et Rassfeld	120°	5 —	Vitalité conservée
—	Hall	115°	10 —	Limite de la vitalité
Bifermentans	Weinberg et Séguin	100°	1,30 —	Vitalité conservée
—	Reddish et Rettger	116°	5 —	Limite de la vitalité
—	A. Sartory et J. Meyer	120°	60 —	Limite de la vitalité
—	A. Sartory et J. Meyer	100°	120 —	Limite de la vitalité
Satellitis	Loris-Melikov	100°	3 —	Vitalité conservée
Flabelliferum	Sturges et Reddisch	116°	3 —	Limite de la vitalité

On se rend donc compte en étudiant ce tableau, combien ces microorganismes sont réfractaires à l'influence de la chaleur humide.

Notons que non seulement les spores sont très thermostabiles, mais les toxines secrétées par ces bactéries sont aussi particulièrement douées à ce point de vue. Ainsi, nous avons relevé que la toxine du Clostridium sporogènes résiste à une ébullition de plusieurs minutes ; celle de Clostridium Sordelli ne devient inactive qu'après trente minutes de chauffage à 60°, alors que la toxine du Clostridium saprotoxicum, proche parent du Clostridium sporogenès est complètement thermostabile en milieu acide.

Il faut, en outre, retenir, que les toxines de toutes ces *Sporogénidées* diffèrent pour le même organisme suivant les conditions de cultures et le mode de préparation et qu'en respectant certaines données, on peut obtenir des toxines plus ou moins thermostabiles et même une toxine définitivement thermorésistante.

Nous citerons comme exemple la toxine du *Clostridium sporogenès.*

Weinberg et Séguin (44), ont pu obtenir la toxine soluble du *Clostridium sporogenès* en filtrant sur bougie Chamberland des cultures jeunes (24 à 48 heures) en bouillon glucosé. L'injection intra-veineuse de 3 cc³ tue le cobaye en 30 à 60 secondes.

Barger et Dale (45), ont cultivé leur souche de *Sporogenès* dans un milieu à la viande au cœur de bœuf et ils ont obtenu une toxine filtrée produisant chez le cobaye par l'injection sous-cutanée de 3 cc³ un œdème hémorragique et la mort du cobaye en 10 à 15 minutes.

Cette toxine résiste à une courte ébullition, mais est détruite par une ébullition prolongée. Il s'agirait, d'après les auteurs, de sels ammoniacaux toxiques.

Bronfenbrenner, Schlesinger et Orr (46), ont retiré des cultures en bouillon-viande hachée un produit toxique dialysable et définitivement thermostabile. Exposé à une température de + 120° et en présence d'un alcali, cette toxine donne naissance à des composés basiques volatiles.

On constate donc que d'une souche à l'autre du même organisme et selon les conditions du développement on peut obtenir des toxines très résistantes à la chaleur. Il semble d'après toutes ces expériences, que les substrats à base de viande jouent un rôle de premier ordre dans la réalisation de ce phénomène et on conçoit l'importance de cette constatation pour la fabrication des conserves de viande et d'abats.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE VI

ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU CLOSTRIDIUM BIFERMENTANS

Nous nous croyons en droit de donner ici la description sommaire du Clostridium bifermentans, isolé par A. SARTORY et J. MEYER, que nous avons utilisé pour effectuer nos recherches personnelles sur les causes d'altérations des conserves de viandes et d'abats.

Cette bactérie thermophile, anaérobie stricte et durable, a été isolée en partant de conserves de pâté de foie avariées.

Morphologiquement, il s'agit de bâtonnets isolés ou groupés en chaînettes plus ou moins longues, mesurant de 5 à 8 μ de longueur sur 0,8 à 1,3 μ de largeur. Ces bâtonnets se présentent avec des extrémités faiblement arrondies, légèrement hypertrophiées vers les deux pôles à l'état jeune. A ce stade et en anaérobiose stricte, la bactérie est mobile et munie de cils péritriches. Dans les cultures âgées (10 à 14 jours), la bactérie devient légèrement hypertrophiée au centre en formant des spores médianes ou subterminales. Ces éléments mesurent de 0,3 à 2 μ de longueur, sur 0,2 à 0,6 μ de largeur.

La bactérie est GRAM positive et ne forme pas de capsule.

Au point de vue physiologique, NACHED a pu constater

qu'il s'agit d'une anaérobie stricte, thermophile, ayant sa température optimum de croissance entre + 45° et + 55°. Les températures-limites de croissance ont été fixées entre + 27° et + 68°. La bactérie résiste à un traitement de six heures à + 65°, à un chauffage de douze heures à + 55° et deux heures d'exposition à + 100° ne nuisent pas à la vitalité de cet organisme.

La revivification de ces souches est encore possible après un chauffage d'une heure à + 120° et devient négative par le traitement dépassant une heure à cette dernière température. Un séjour à une température en-dessous de 0° pendant deux jours n'a pas inhibé la vitalité de l'organisme.

Le pH optimum de croissance pour notre bactérie se trouve à pH = 8,2. Les limites de croissance pour les concentrations en ions H du milieu ont été déterminées entre pH = 5,8 et 8,9.

La lumière n'a aucune action inhibitrice sur la croissance de l'organisme.

Les caractères culturaux essentiels déterminés par NACHED peuvent se résumer de la façon suivante :

En milieux liquides de choix, il se forme un trouble abondant avec dégagement gazeux, puis formation d'un dépôt visqueux et d'un voile adhérent aux parois des tubes se fragmentant par agitation énergique en flocons compacts et zoogléiformes.

Pour ce qui est des milieux solides, on note l'apparition des colonies à aspect particulier, elliptique ou lenticulaire, émettant des bourgeons latéraux, qui aboutissent à la formation d'éléments agglomérés et mamelonnés, ressemblant à des cristallisations d'acide urique. Tous les milieux dégagent une odeur putride et donnent lieu à un dégagement de gaz.

Cette bactérie est douée d'un pouvoir protéolytique très prononcé sur le sérum coagulé, sur la gélatine, sur le blanc d'œuf et sur la viande. Le lait est modifié par la secrétion d'une présure et d'une caséase. La réaction reste alcaline jusqu'à la digestion tardive de la caséïne et des matières lipidiques, puis elle vire vers une légère acidité à la suite de la fermentation du glucose et de la glycérine libérée par la saponification de ces substances et l'apparition d'acides aminés.

Au point de vue pouvoir réducteur, le *Clostridium bifermentans* étudié, produit de l'hydrogène sulfuré et de l'indol, il ne réduit pas le rouge neutre, mais il réduit les nitrates en nitrites et en ammoniaque.

Comme gaz, NACHED a pu noter la formation d'hydrogène sulfuré, d'anhydride carbonique, d'ammoniaque et de méthane.

Les propriétés biochimiques vis-à-vis des sucres peuvent se résumer de la façon suivante : l'organisme assimile le glycose, le saccharose, le maltose, le mannose, le galactose, la glycérine et le sorbitol avec acidification du milieu, il reste sans action sur le lévulose, le lactose, l'amidon, l'inuline et le glycogène.

Des recherches restreintes sur le pouvoir pathogène expérimental de l'organisme étudié, ont démontré que l'inoculation intra-musculaire (5 cc^3) chez le cobaye aboutit à la formation d'une tuméfaction locale allant jusqu'à l'abcédation et la mort du cobaye.

Cette bactérie doit donc être considérée comme dangereuse, car elle peut occasionner sur des terrains propices des troubles graves par son pouvoir pyogène.

De par ses caractères, cette anaérobie à spore centrale ou subterminale doit être considérée comme identique au *Clostridium bifermentans* TISSIER et MARTELLY (43), 1902, étudié aussi par ZEISSLER (47) et surtout par WEINBERG (48) et GINSBOURG.

WEINBERG, NATIVELLE et PRÉVOT (41), donnent la description suivante en ce qui concerne la systématique de ce germe :

« La place de ce microbe dans la systématique a fait l'objet de nombreux travaux.

« TISSIER fut frappé de l'analogie de ce germe avec le *Clostridium sporogenès* METCHNIKOFF, mais la morphologie, l'absence de mobilité et de cils, l'absence d'agglutination par le sérum anti-sporogenès lui permirent de différencier ces deux espèces.

« Vraisemblablement, le Bacille anaérobie immobile et sporulé, signalé par DUPÉRIER (49), dans les cas de gangrènes gazeuses et que l'auteur considère comme une forme intermédiaire entre le *Vibrion septique* et le *Bacille perfringens*, n'est autre que le *Bacillus bifermentans*. Miss HEMPL (50) a isolé dans un cas analogue un germe qui semble très voisin du *Bacillus bifermentans*. »

Nous tenons à faire ici une remarque personnelle au sujet de la mobilité du *Clostridium bifermentans*. Il était classique de considérer ce germe comme immobile et non-cilié. Cependant, STURGES et DRAKE (51), ont déjà montré en 1929, que sa mobilité pouvait être mise en évidence en utilisant des cultures jeunes en bouillon de veau et en employant la méthode

des tubes capillaires. Zeissler, Levenson et tout récemment A. Sartory et J. Meyer ont fait les mêmes constatations et la motilité du *Clostridium bifermentans* ne fait donc pas de doute.

« Hall (52), a d'abord admis la dénomination de *Clostridium bifermentans* pour les souches immobiles ; il en a séparé, par contre, les formes mobiles qu'il rattachait à l'espèce : *Clostridium centrosporogenès*. Ce n'est pas l'avis de Drake et Sturges, qui ont montré, comme nous l'avons vu plus haut, qu'on peut toujours mettre en évidence la mobilité de toutes les souches du *Bacillus bifermentans*, lorsqu'on prend le soin de les examiner en tubes capillaires scellés.

« Des études nouvelles poursuivies par Hall (53) et ses élèves, leur ont permis de reconnaître que l'anaérobie décrit sous le nom de *Bacillus centrosporogenès* n'est autre que le *Bacillus bifermentans*. Il n'est donc pas étonnant que Mac Coy et Mac Clung aient trouvé que le *Bacillus centrosporogenès* et le *Bacillus bifermentans*, ont les mêmes antigènes H. et O. »

La bactérie isolée de conserves de pâté de foie par A. Sartory et J. Meyer, nous ayant servi dans nos recherches personnelles, doit donc être rangée dans le même genre et doit être considérée comme une variété du *Clostridium bifermentans* Tissier et Martelly, se différenciant par ses propriétés biochimiques vis-à-vis des glucides et par son pouvoir pathogène de bactérie pyogène.

Des denrées contenant ce germe sont de toute façon à considérer comme nocives et doivent être rejetées pour la consommation humaine, ceci d'autant plus, comme le constate Nached, que cette bactérie possède un pouvoir protéolytique très prononcé et doit former dans les conserves contaminées des produits de dégradation très toxiques.

La contamination des conserves par cette bactérie doit être facile et assez fréquente, vu sa grande résistance vis-à-vis des températures élevées et sa propriété de pouvoir survivre à une stérilisation effectuée dans de mauvaises conditions.

CHAPITRE VII

SUR LES TECHNIQUES DE FABRICATION DES CONSERVES

Etant donné que nous avons voulu étudier les différents facteurs qui peuvent intervenir pour favoriser la contamination des conserves alimentaires en boîtes de fer-blanc, il nous semble nécessaire de donner, tout d'abord, un court aperçu sur les techniques industrielles habituellement mises en œuvre dans les fabriques de conserves.

On peut résumer les différentes manipulations pour la mise en conserves des produits alimentaires de la façon suivante :

1er Temps : le blanchissement des matières premières.

2e Temps : le remplissage des boîtes avec la matière première et le liquide additif (eau, saumures, jus, vinaigre, sirop, etc...).

3e Temps : le préchauffement à environ 70°.

4e Temps : la fermeture définitive de la boîte avec le couvercle.

5e Temps : la stérilisation ou l'autoclavage.

6e Temps : le refroidissement artificiel à la sortie de l'autoclave.

7e Temps : l'examen de l'aspect extérieur des boîtes serties et le triage.

8e Temps : finissage et étiquetage des boîtes.

Nous donnerons quelques mots explicatifs sur les principales manipulations précitées :

Sous le terme de blanchissement on comprend le chauffage préalable à l'ébullition pendant 5 à 10 minutes suivant les conserves envisagées. Il est naturellement entendu que cette manipulation est précédée par diverses autres opérations : lavage, triage, préparations préalables, etc...., des produits à conserver.

Le blanchissement est effectué pour différentes raisons : la précuisson à l'eau ou à la vapeur rend les produits plus tendres, les fait gonfler, complète les manipulations de lavage et de nettoyage, mais réalise surtout déjà une stérilisation provisoire en éliminant un certain nombre de bactéries présentes à l'état végétatif.

Le préchauffage à environ 70° est appliqué aux Etats-Unis de l'Amérique du Nord, dans toutes les fabriques de conserves et on le désigne sous le terme : « *Exhaust* ». En Europe, on s'est également rendu compte de l'importance de cette manipulation, on ne l'exécute cependant pas encore d'une façon rationnelle et on la néglige surtout souvent lorsque le jutage est fait à chaud. Les buts de ce préchauffage sont multiples.

On chasse l'air de l'intérieur des conserves à stériliser. On évite ainsi des erreurs graves dues à la présence de l'air qui empêcherait d'atteindre, à l'intérieur de la boîte, la température marquée par le manomètre de l'autoclave.

On effectue le préchauffage du produit à la température convenable, assurant ainsi une température initiale constante pour toutes les boîtes. Cette température initiale est d'une très grande importance, comme nous allons pouvoir le démontrer dans l'exposé de nos travaux personnels.

Le préchauffage assure la fermeture à chaud des boîtes de conserves, la pose des couvercles est ainsi facilitée et le sertissage des boîtes se pratique seulement de cette façon avec l'étanchéité indispensable.

Les fabriques de conserves aux Etats-Unis utilisent des appareils préchauffeurs spéciaux, appelés « Exhausters ». Ils sont formés par un bain d'eau chaude ou de vapeur, où l'on fait passer les boîtes immédiatement avant le sertissage.

La durée de l' « exhaust » est de 5 à 20 minutes suivant les produits à conserver. La tempérautre de sortie de l' « Exhauster » doit être de 70 à 80°, de façon à ce que la fermeture et le passage à l'autoclave des boîtes soient effectués à cette température.

La durée de stérilisation est ainsi notablement abrégée ; on évite de soumettre les couches extérieures du produit à un chauffage excessivement long.

Puisque la stérilisation dure moins longtemps, l'exploitation des autoclaves est plus rationnelle.

La pression intérieure de la boîte pendant la stérilisation et surtout au moment de la détente est notablement diminuée. On évite de cette façon des becquets et l'on ménage les sertis. Après le refroidissement, on obtient un vide partiel dans la boîte, de l'ordre de 250 mm de mercure, ce qui évite le flochage.

L'absence de l'air à l'intérieur de la boîte exerce une influence favorable très importante dans le cas de produits susceptibles d'attaquer le fer-blanc et la couleur des conserves est préservée.

Quant au refroidissement artificiel rapide, CHEFTEL dit qu'il devrait être pratiqué sans exception. En effet, le refroidissement d'une boîte de conserve suit les mêmes lois que le chauffage ; puisque la durée de ce dernier est un important facteur pour la stérilisation, il s'ensuit qu'un refroidissement rapide réduit l'effet stérilisateur de l'autoclave.

Le refroidissement à l'air est en pratique rarement uniforme, et il dépend de la température et de la vitesse de circulation de l'air à l'extérieur et à l'intérieur de l'autoclave. Il en résulte qu'il est imprudent de compter sur la lenteur du refroidissement pour terminer la stérilisation. Dans ce cas, il se peut que des boîtes se refroidissent plus rapidement que les autres et finissent par être insuffisamment chauffées.

Au contraire, le refroidissement rapide présente de grands avantages pour l'aspect du produit et de l'étamage à l'intérieur de la boîte. Bien des défauts que l'on attribue, souvent à tort, au fer-blanc, sont éliminés par ce procédé. La marmorisation bleue-noire que l'on remarque surtout à l'intérieur des boîtes de petits pois ou de haricots est très atténuée par le refroidissement rapide à la fin de la stérilisation.

A l'examen de l'aspect extérieur des boîtes serties, on note les faits suivants : immédiatement après la fermeture, les fonds de la boîte cylindirque présentent à l'extérieur une légère concavité.

L'opération de la stérilisation produit une pression de vapeur à l'intérieur de la boîte, qui se manifeste normalement, à la sortie de l'autoclave par une « poussée » des fonds vers l'extérieur. Les boîtes qui ne présentent pas cette déformation

sont toujours à éliminer ; en effet, l'absence d'une surpression à l'intérieur indique une fuite. Au cours du refroidissement, les fonds « rentrent », ils reprennent, leur position primitive. S'ils ne le font pas spontanément, ou bien si, après un temps plus ou moins long, ils se déforment à nouveau vers l'extérieur, on dit que la boîte « bombe ».

C'est ce phénomène de « bombage », qui est le symptôme typique d'une mauvaise stérilisation ou d'une fermeture défectueuse des boîtes de conserve et ce sont les causes de ce « bombage » que nous avons essayé d'étudier.

D'après les travaux de Serger (54), Mormann (55), Esty (56), Cameron, Stevenson, Bigelow (57), K.-F. Meyer (58), Viljoen (59), Cheftel (60), etc..., nous savons actuellement que le bombage se ramène aux différentes causes suivantes :

1° Dégagement de gaz par des microorganismes : « bombage biologique ».

2° Dégagement de gaz par suite de réactions chimiques ou physico-chimiques : « bombage physico-chimique ».

Ces deux facteurs sont les plus importants et les plus fréquents dans l'altération des conserves. A côté de ces causes du bombage, on note encore dans certains cas :

3° Une surpression dans les boîtes de conserve par la dilatation des fibres cellulaires du produit conservé.

4° Une surpression dans les boîtes de conserve par la congélation du produit conservé.

Pour notre travail, le « bombage biologique » seul a été envisagé. Ce bombage biologique peut avoir deux origines :

a) Conséquence d'une stérilisation insuffisante et contamination endogène du produit conservé.

b) Conséquence d'une étanchéité défectueuse de la boîte de conserve et par conséquent contamination exogène du produit stérile, grâce à une fuite de la boîte.

Le bombage biologique à la suite de « boîtes non étanches », ne nous a pas intéressé particulièrement dans l'élaboration de

notre sujet, car le plus souvent, il s'agit de quelques rares échantillons d'un lot de conserves, qui peuvent être sorties de l'usine dans un état de mauvais sertissage ou qui peuvent avoir subies au cours du transport des chocs ou des heurts trop brutaux ou encore pouvant avoir été stockées trop longtemps dans des endroits humides ou ayant été en contact avec des produits corrosifs.

Le bombage biologique par stérilisation insuffisante est, par contre, beaucoup plus dangereux, car il comprend d'habitude des lots entiers et la diffusion de ces lots affecte en général non seulement un individu, mais des collectivités entières.

Nous clôturons ce chapitre avec un court résumé sur le bombage biologique dû à une étanchéité défectueuse des boîtes ; nous empruntons ce texte à Cheftel (42) :

« Si la boîte n'est pas étanche, des microorganismes peuvent y pénétrer après la stérilisation et s'y développer ensuite en altérant le produit conservé et en provoquant le bombage s'il s'agit de germes gazéifiants. On pourrait supposer que les gaz, produits par ces organismes au cours de leur développement, s'échappent par la fuite de la boîte, mais il n'en est ainsi que pour de très grosses fuites qui auraient déjà été remarquées lors de la stérilisation.

« Il s'agit généralement de fuites minimes. Elles donnent accès aux germes pendant le refroidissement, alors que la dépression à l'intérieur en favorise l'entrée. La dilatation thermique du métal joue aussi un rôle. Ensuite, à la faveur de la pression qui augmente à l'intérieur, ces fuites sont bouchées par des particules du produit (albumines coagulées ou graisses) et la boîte est de nouveau étanche, mais contaminée. Le bombage augmente et la boîte finit par éclater.

« Lorsqu'une boîte bombe, la pression intérieure peut atteindre 2 à 3 kgs et la faire éclater. »

CHAPITRE VIII

DESCRIPTION DES APPAREILS ET TECHNIQUE EMPLOYÉE AU COURS DE NOS RECHERCHES

A) *Technique pour la détermination du pH des substrats examinés par la méthode électrométrique.*

Il existe différentes méthodes pour déterminer la concentration en ions H des denrées alimentaires. Nous avons eu recours à celle utilisant l'électrode à hydrogène de Sannié-Vincent. Celle-ci a été adaptée directement sur la pile au calomel de Vlès (61) formant une chaîne dont la force éelctromotrice permet de déduire le pH de la solution inconnue en appliquant le théorème de Nernst, relatif aux piles de concentration. La pile ainsi réalisée comprend les éléments suivants :

1° Une électrode à gaz constituée par un fil de platine en contact avec une atmosphère d'hydrogène.

2° La solution inconnue dont on désire mesurer le pH ; l'ensemble de ces deux éléments constituée la pile hydrogène.

3° La pile de référence encore appelée *pile au calomel*, constituée par du calomel, du mercure, — ce dernier relié au circuit extérieur par un fil de platine — et une solution saturée de chlorure de potassium.

La jonction avec la pile à hydrogène se fait à travers cette solution de chlorure de potassium. On a donc la chaîne suivante :

(Platine-Hydrogène) + (Solution d'ions H) ⫞ (Solution de KCl-Calomel)
(électrode à gaz) (électrode au calomel)

En appliquant à cette chaîne le théorème de NERNST relatif aux piles de concentration, on a :

$$pH = \frac{E - E_0}{B}$$

E = étant la force électromotrice de la chaîne en millivolts.

E_0 = la force électromotrice de la pile de référence au Calomel.

$$B = 2{,}3 \ \frac{RT}{F} = 0{,}001983 \ T.$$

T = la température absolue de la chaîne.

Les termes E_0 et B varient avec la température. Le tableau suivant donne les valeurs que nous avons été amené à utiliser ; les forces électromotrices mises en jeu ayant été d'un ordre de grandeur inférieur aux Volts, il est usuel de les compter en prenant le millivolt pour unité.

TABLEAU DES INDICES DE CORRECTION DE TEMPERATURE

Température	E	B
15°	0,2525	0,0571
16°	0,2517	0,0573
17°	0,2509	0,0575
18°	0,2503	0,0577
19°	0,2495	0,0579
20°	0,2488	0,0581
21°	0,2482	0,0583
22°	0,2475	0,0585
23°	0,2468	0,0587
24°	0,2463	0,0589
25°	0,2458	0,0591

La force électromotrice de la pile se mesure grâce à un potentiomètre qui donne directement la valeur des millivolts qui équilibrent la pile inconnue.

La durée de l'établissement de l'équilibre de la chaîne peut être assez longue, surtout pour la progression du pH de 5,7

vers la limite. Jusqu'à pH = 5,7, la progression rapide représente l'établissement du courant électrique dans le circuit. A partir de pH = 5,7, la progression du pH est due à deux phénomènes simultanés, mais d'importance inégale :

Etablissement d'un équilibre entre l'H moléculaire de l'atmosphère, l'H atomique du noir de platine et l'H ionique de la solution.

La préparation de l'électrode de platine platiné comporte plusieurs opérations qui doivent être conduites avec soin. Ce sont le *nettoyage*, le *platinage* et l'*hydrogénation*. Le platinage doit être refait toutes les dix mesures environ et l'hydrogénation toutes les deux à trois mesures.

Le nettoyage se fait à l'aide du mélange sulfochromique dans lequel on plonge l'électrode pendant quelques minutes, après l'avoir talquée préalablement. On rince ensuite l'électrode à l'eau distillée en espaçant si possible les rinçages d'heure en heure.

L'électrode est platinée en la plaçant pendant quatre minutes sous une tension de 4 volts à la cathode dans la solution suivante :

$PtCl^4$	1 gr.
$Pb(CH^3COO)^3$ neutre	0 gr. 025
H^2O distillée q.s.p.	100 cc

Il faut avoir soin de mener cette opération avec un courant de petite intensité en le réglant avec un rhéostat. On voit se dégager des bulles et se déposer une mince couche de noir de platine à aspect velouté sur l'électrode.

L'hydrogénation se fait après avoir lavé l'électrode deux ou trois fois avec l'eau distillée, puis on place l'électrode au pôle négatif d'une solution à 1% d'acide sulfurique, une dizaine de minutes environ. Enfin, on lave l'électrode une dernière fois avec précaution sous un mince filet d'eau distillée et on la place dans le récipient-électrode en ayant soin de n'en point toucher les parois avec l'électrode. Le récipient-électrode doit toujours contenir un peu d'eau distillée lorsque l'appareil est au repos.

Pour la mesure du pH du substrat à examiner, on place celui-ci dans le récipient-électrode pour y faire plonger convenablement l'électrode polarisée. On fait passer un courant d'hydrogène lavé provenant d'une bombe à hydrogène. Pour

obtenir ce gaz avec toute la pureté nécessaire, nous l'avons fait passer par quatre flacons laveurs : le premier contenant de l'eau distillée, le deuxième une solution saturée de permanganate de potasse, le troisième une solution de pyrogallate de potasse et le quatrième de l'eau distillée.

Pendant que s'établit l'équilibre ionique dans le récipient-électrode, on étalonne par comparaison avec une pile témoin le potentiomètre pour déterminer le point zéro de l'appareil. Au bout d'un quart d'heure, une demi-heure au plus, on peut lire sur le potentiomètre la valeur des millivolts qui équilibrent la force électromotrice de la pile inconnue.

On répète la lecture deux, trois fois en attendant chaque fois quelques minutes pour être bien assuré d'avoir atteint la limite. Et la formule de NERNST relative aux piles de concentration :

$$pH = \frac{E - E_0}{B}$$

permet alors de calculer, en tenant compte de la température, la valeur du pH cherché.

B) *Méthode d'ensemencement et technique néphélométrique pour la détermination du nombre de spores dans les substrats alimentaires liquides.*

Pour ensemencer les substrats alimentaires que nous voulions examiner afin de connaître l'influence du nombre des germes ou des spores sur la stérilisation des denrées, nous avons employé la méthode indiquée par SCHMUTZ (62).

Nous prélevons d'un milieu solide gélosé au moyen du fil de platine trois œses de culture âgée de 15 jours de *Clostridium bifermentans*, cultivée en anaérobiose dans le récipient de J. MEYER. Ce prélèvement est ensemencé dans 20 cc³ de bouillon synthétique stérile. Le tube est placé pendant 24 heures dans l'étuve à + 37° en anaérobiose. Pour exclure des souillures éventuelles, qui pourraient provenir de la gélose et pour obtenir une culture aussi jeune que possible, contenant un minimum de bactéries mortes, nous repiquons 2 cc³ de ce bouillon sur 200 cc³ de bouillon stérile ; celui-ci est employé après un nouveau séjour de 24 heures à l'étuve à + 37° pour les ensemencements définitifs des denrées. Ce bouillon ensemencé est désigné par la suite sous le terme de « bouillon de souche-mère ».

Avec une pipette stérile et en tenant compte de toutes les conditions d'aseptie rigoureuse, nous avons procédé à partir de cette culture de souche-mère à l'ensemencement de nos différentes séries de substrats alimentaires, dans lesquels nous avons voulu étudier l'influence du nombre des germes sur la marche de la stérilisation.

Pour la numération des germes à introduire dans nos substrats, nous nous sommes servi de la technique néphélométrique au moyen de la cellule photo-électrique. Le principe de cet appareil et le mode opératoire sont les suivants :

Pour déterminer le degré d'opacité par la méthode néphélométrique, on procède de la manière suivante : on verse dans une cuve en verre à faces parallèles de l'eau distillée pure. On place cette cuve dans un chariot spécialement aménagé dans le support de la cellule photo-électrique et on fait passer le courant électrique dans cette dernière. La lumière qui traverse ainsi la cuve contenant l'eau produit une ionisation de la souche de sélénium qui constitue la cellule photo-électrique proprement dite. Celle-ci, sous l'influence de cette ionisation, émet un courant dont la tension peut être lue en millivolts sur un galvanomètre. A l'aide d'une résistance on règle le courant électrique de manière à ce que l'aiguille du galvanomètre marque 100 degrés opacimètriques pour l'eau distillée. La transparence de l'ensemble :

« eau pure + cuvette »

est donc supposée égale à 100%.

D'un simple coup de levier on déplace ensuite le chariot-porte-cuve, pour changer de position la première cuve, qui est remplacée par une seconde, où se trouve le bouillon synthétique stérile, qui nous sert de solution de comparaison. Amené dans le cône de lumière, ce liquide, légèrement teinté de jaune, laisse passer une quantité plus faible de lumière et par conséquent sensibilise la cellule photo-électrique moins fortement que les rayons ayant traversé l'eau distillée pure. La déviation de l'aiguille du galvanomètre est donc plus petite. Le degré de déviation ainsi déterminé constitue alors le zéro pour l'exament en cours.

Ce degré une fois fixé, on rejette le bouillon de la deuxième cuve et on le remplace par l'émulsion à examiner, que l'on agite au préalable pour la rendre homogène. Celle-ci laisse, à son tour, passer encore moins de lumière, et la déviation

galvanométrique devient par conséquent encore plus petite. Elle est donc d'autant moindre qu'il y a plus de bactéries ou de spores dans l'émulsion.

Il est absolument nécessaire de contrôler l'appareil entre les différentes mesures de comparaison avec la cuve-témoin contenant l'eau distillée pure et se trouvant continuellement dans l'appareil sur le chariot mobile. Après chaque mesure de l'émulsion bactérienne, on doit donc vérifier si le galvanomètre marque toujours 100 M.V. pour l'eau distillée, sinon il faut le régler de nouveau à l'aide des rhéostats intercalés dans le circuit de l'appareil. Les plus petites modifications du courant du secteur ou d'une pile alimentant la lampe électrique changent sensiblement la déviation de l'aiguille et si l'on néglige cette mise au point de l'appareil, on obtient des résultats absolument erronés.

La cellule photo-électrique ne peut supporter sans fatigue un éclairage prolongé. Il est indispensable de couper la lumière entre deux mesures et d'exposer la cellule photo-électrique un minimum de temps à la lumière pour effectuer les mesures.

Le néphélomètre électrique a le grand avantage, vis-à-vis d'autres appareils optiques, d'être indépendants des diverses influences extérieures, telles que la sensibilité subjective et individuelle de l'œil humain, la fatigue des yeux, la nature de la lumière utilisée, etc...

Pour déterminer le nombre des germes présents dans un substrat, on effectue, tout d'abord, une numération des microbes à la cellule « compte-globule » de Nageotte ou de Liebreich ; on mesure en même temps le degré néphélométrique du milieu. Schmutz a prouvé que le degré du trouble déterminé avec la cellule photo-électrique, correspond au nombre des bactéries et non à leurs poids. Connaissant par la mesure hématimétrique le nombre des germes pour une émulsion donnée, on peut donc déterminer facilement le nombre des germes contenu dans d'autres émulsions renfermant le même germe à d'autres concentrations en traçant un graphique néphélométrique établi par simple calcul proportionnel.

C) *Description d'un autoclave aménagé pour nos recherches et de sa manipulation.*

L'opération de stérilisation à l'autoclave est la plus importante pour la préparation des aliments de conserve. Pour nos expériences, il fallait prévoir quelques modifications à l'auto-

clave habituellement employé dans les Laboratoires de Bactériologie, afin de réaliser le contrôle scientifique extrêmement précis que nos recherches exigeaient.

Ces modifications ont été appliquées selon les indications de Cheftel (42).

La température de l'autoclave est mesurée souvent à l'aide d'un manomètre. Or, cet instrument est gradué en fonction

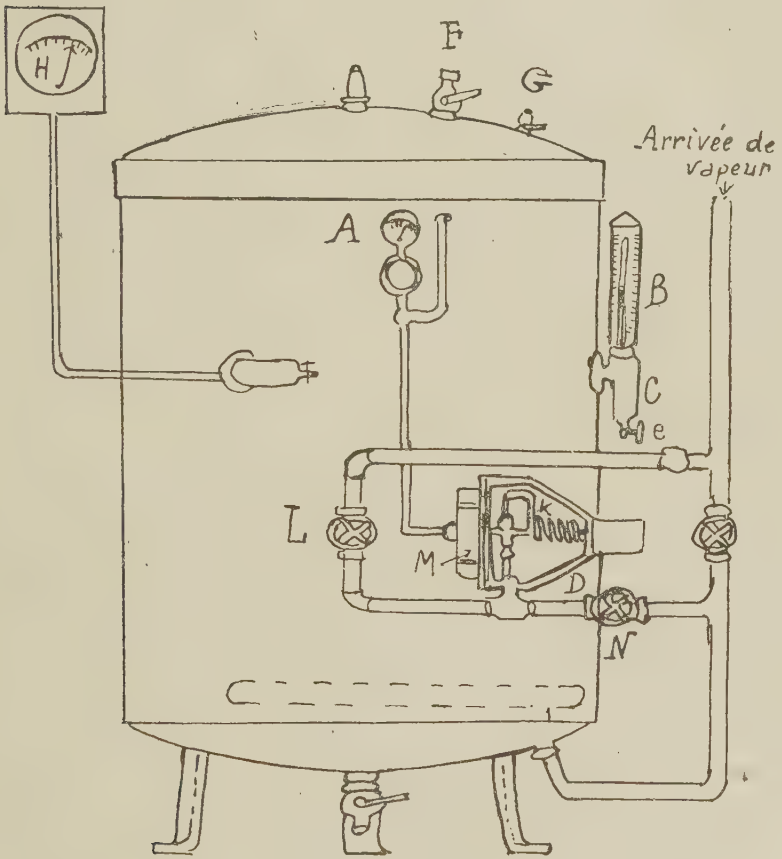


Fig. 1. — Autoclave spec.

de la pression de vapeur d'eau exempte d'air. Il s'ensuit que si l'autoclave n'est pas bien purgé d'air, la température véritable sera inférieure à celle indiquée par le manomètre. D'autre part, si le manomètre est relié à l'autoclave par un trop long tuyau, on aura une perte de charge non négligeable, origine d'une autre inexactitude dans la lecture. En troisième lieu, il est

difficile de garder constante la pression, et partant la température, d'un autoclave où le réglage de l'arrivée des vapeurs se fait à la main.

C'est pour ces raisons qu'aux Etats-Unis tout autoclave est obligatoirement muni d'un thermomètre à mercure, B (fig. 1), appareil de contrôle absolument indispensable. Ce thermomètre est placé sur une poche latérale, C, où un robinet, E, de purge de 2 mm r², constamment ouvert assure la circulation de la vapeur autour du bulbe. Grâce à cette disposition, la température indiquée par le thermomètre est bien celle de la vapeur à l'intérieur de l'autoclave.

Celui-ci est également muni à la partie supérieure d'un deuxième

Celui-ci est également muni à la partie supérieure d'un deuxième robinet de 2 mm r² (G), et d'un robinet de 20 mm r² (F). Ce dernier sert à purger l'appareil pendant la montée en pression. cependant, que le robinet de 2 mm r², comme celui du thermomètre reste constamment ouvert.

Les deux purges continues entretiennent à l'intérieur une circulation de vapeur qui assure une température homogène dans les divers points de l'appareil. Elles permettent, en outre, l'évacuation régulière de petites quantités d'air constamment apportées par la vapeur.

L'autoclave comporte, en outre, un manomètre métallique à cadran (A), fixé aussi près que possible de la chaudière. Ce manomètre est muni d'une double graduation en kilogrammes et en degrés centigrades. La purge initiale doit être continuée jusqu'à concordance des indications de cet appareil avec celui du thermomètre. A ce moment, il est certain que tout l'air a été expulsé ; on ferme alors le robinet de 20 mm r² et l'on commence à compter le temps dès que la température voulue est atteinte.

Pour le réglage automatique de la pression, on a prévu un dispositif spécial (D). Une membrane (M), dont la pression dépend de la pression de l'autoclave, commande le clapet (K) qui règle l'admission de vapeur. Un ressort dont on peut faire varier la tension permet de régler l'appareil pour des températures comprises entre 110° et 125°. Pour la montée en pression, on ouvre le robinet (L). Lorsque la purge est terminée, ce robinet est fermé, et l'admission de vapeur ne se fait plus que par l'intermédiaire du régulateur. Une fois que l'appareil est bien réglé, les écarts sont de + 0°,5.

C'est à l'aide de ces modifications aménagées sur notre autoclave, que nous avons été à même de mener à bonne fin nos expériences.

CHAPITRE IX

RAPPORT ENTRE LA STÉRILISATION DES CONSERVES ET LEUR CONCENTRATION EN IONS H

Nous avons jugé intéressant d'étudier quelques facteurs qui semblent jouer un rôle dans la préparation de conserves stérilisées.

Or, depuis les travaux entrepris aux Etats-Unis par les Laboratoires de Recherches du Département de l'Agriculture, de la National Canners Association, de diverses Universités, de l'American Can Company, et de la Continental Can Company, il faut considérer en vue de la stérilisation par la chaleur d'un produit de conserve, deux propriétés intrinsèques qui interviennent comme facteurs très importants :

La concentration en ions H de la conserve (pH) et la vitesse de pénétration de la conserve par la chaleur.

C'est donc sur ces deux problèmes que notre attention a été fixée.

Nous avons, tout d'abord, essayé d'examiner l'influence du pH sur la préparation des conserves. A cet effet, nous nous sommes servi de notre souche de *Clostridium bifermentans*, isolée de conserves avariées d'abats de viande.

Il est bien entendu que nos recherches ne doivent pas être généralisées, car il est connu que la résistance à la chaleur et aux autres facteurs physiques diffèrent beaucoup pour les différents germes microbiens que l'on a rencontrés dans les conserves.

Notre bactérie étant un microbe sporogène, comme nous l'avons décrit antérieurement, nous avons jugé utile d'établir nos recherches d'après le plan suivant :

1° Essais de la résistance des spores à la chaleur en fonction du pH du milieu.

2° Essais de la stérilisation en fonction du nombre de spores et du pH du milieu.

3° Essais de la variation du pH en fonction du chauffage et du nombre des spores dans les conserves d'abats.

Afin de réaliser les conditions nécessaires pour étudier ces questions, nous avons tout d'abord été obligé de constituer un milieu synthétique favorable et s'adaptant le mieux à la réalité de la vie bactérienne dans les conserves.

Après de nombreuses expériences, notre choix s'est arrêté sur le substrat suivant :

Asparagine	3 gr.
Phosphate bipotassique	1 gr.
Sulfate ferrique	traces
Chlorure de calcium	0 gr. 1
Sulfate de Magnésie	0 gr. 3
Chlorure de Sodium	1 gr.
Glucose	5 gr.
Eau distillée	1000 cc

Ce milieu a été amené à l'aide de solution N/10 de NaOH ou de HCl à des concentrations différentes et déterminées en ions H. Les mesures ionométriques ont été effectuées avec le potentiomètre à électrode d'hydrogène antérieurement décrit.

Il fallait donc, en premier lieu, déterminer la zone de pH optimum de résistance contre la chaleur pour le *Clostridium bifermentans*. Il nous a semblé important de rechercher dans quelle proportion cette zone se rapprochait du pH des conserves des abats de viande.

Nous avons, tout d'abord, déterminé les pH limites de croissance et l'optimum de croissance de notre organisme. A cet effet, nous avons amené notre milieu synthétique aux trois pH suivants : 5,6 — 7,2 — et 8,4. Ces milieux ont été ensemencés et placés à l'étuve. Une série de culture a été effectuée à + 37° et une seconde série à + 55°. Le développement et

la luxuriance de ces cultures ont été ensuite contrôlés au moyen de la méthode de Schmutz à la *cellule photoélectrique*, comme nous l'avons antérieurement indiqué. Ces examens ont été pratiqués après un séjour à l'étuve de 24, 36, 48, 96 et 192 heures. Nous avons ainsi constaté que le rendement cultural était le meilleur dans le milieu à pH = 8,4 ; le développement était très satisfaisant sur le mileu à pH = 7,2, alors que la croissance est restée faible en milieu à pH = 5,6.

Après avoir ainsi par cet examen préliminaire fixé nos idées, nous avons constitué trois séries de tubes à concentrations en ions H différentes depuis pH = 5,2 jusqu'à 9,2, comme nous l'exprimons dans le tableau suivant. Deux séries de ces tubes ont été ensemencées avec notre *Clostridium* et placées à + 37°, tandis que la troisième série a été cultivée à + 55°.

La première série à + 37° a été examinée après un séjour de 24 heures à l'étuve. Les deux autres séries sont été contrôlées à la cellule photo-électrique après 96 heures de culture (voir graphique n° 1). Une série de tubes non ensemencés a été placée chaque fois à l'étuve pour contrôler éventuellement l'influence de la concentration par évaporation sur les mesures néphélomètriques. D'autre part, une cinquième série de tubes a été simultanément ensemencée avec les trois premières séries, mais cette cinquième série a été conservée à la glacière pour servir au moment de l'examen comme témoin pour les mesures néphélomètriques. Les ensemencements initiaux ont été effectués à l'aide de 0,1 cc³ de bouillon de souche-mère préparé selon la technique indiquée plus haut.

Nous exprimons dans le tableau suivant les résultats de ces expériences (voir graphique n° 1).

TABLEAU N° 1

Résultats néphélométriques des expériences de détermination de l'optimum de concentrations en ions H du milieu de culture et des limites de croissances dues aux pH du milieu pour le *Clostridium bifermentans*.

Séries	Valeurs néphélomètriques			Valeurs absolues		
	1	2	3	1	2	3
Milieu stérile	90.00	89.50	89.25	0	0	0
Milieu témoin	82.00	74.50	73.00	8.00	15.00	16.25
Milieu à pH = 5.20	82.00	74.50	73.00	8.00	15.00	16.25
5.83	81.50	74.25	71.75	8.50	15.75	17.50
6.27	81.00	72.00	70.00	9.00	17.50	19.25
6.75	80.75	72.00	68.25	9.25	17.50	21 00
7.22	80.50	72.50	69.25	9.50	17.00	20.00
7.49	80.25	72.00	68.00	9.75	17.50	21.25
7.82	80.00	71.00	64.50	10.00	18.50	24.75
8.21	78.50	70.00	60.75	11.50	19.50	28.50
8.48	79.75	70.50	65.00	10.25	19.00	24.25
8.82	81.75	74.00	68.50	8.25	15.50	20.75
9.20	82.00	74.50	73.00	8.00	15.00	16.25

Nous pouvons donc résumer ces résultats de la façon suivante : le pH optimum de croissance pour le *Clostridium bifermentans* se trouve à pH 8,2 et la zone optimum de croissance peut être fixée entre 7,49 et 8,48. Les limites de croissance pour les concentrations en ions H peuvent être déterminées entre pH = 5,8 et 8,82.

La vitesse de croissance se manifeste d'une façon beaucoup plus marquée à la température de + 55° qu'à celle de + 37°.

En contrôlant les réactions de ces cultures au moment des mesures néphélométriques, nous avons pu constater que la bactérie par sa croissance et son métabolisme occasionne dans les premiers quatre jours de culture, une acidification des milieux, celle-ci se manifeste surtout dans les milieux où le pH initial se trouve en alcalinité, dépassant 7,82.

Connaissant ces facteurs, nous avons poussé plus en avant nos expériences, afin d'élucider le rapport entre le pH du milieu et la chaleur de stérilisation sur le développement de notre bactérie.

A cet effet, nous avons encore utilisé la même marche. Nous avons préparé huit séries de tubes à des pH de 5,20 à

9,20. Deux séries ont encore servi de témoin, l'une comme milieu stérile, l'autre comme milieu témoin, conservé à la glacière après ensemencement.

Les six autres séries ont été ensemencées avec 0,1 cc de bouillon de souche-mère, préparé comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent. Ces tubes ensemencés, ainsi que la série des tubes du milieu témoin ont été placés à l'étuve à + 55°. Ensuite les milieux témoins ont été disposés à la glacière et les six autres séries de tubes cultivés ont été portés à l'autoclave pour pratiquer la stérilisation. Nous avons indiqué antérieurement que le *Clostridium bifermentans* dans le pâté de foie pouvait résister :

pendant	6 heures	à	+ 65°
—	12	—	+ 55°
—	2	—	+ 100°
—	1	—	+ 120°

Après ces constatations, nous avons placé nos six séries de tubes pendant dix minutes, (respectivement trente minutes et soixante minutes) à + 110° et à + 120°. Puis, nous avons retiré tous les tubes et nous les avons refroidi brusquement dans un bain d'eau chauffée à + 37°. Les tubes sont ensuite portés par série dans l'étuve à + 55° où nous les avons laissé pendant 72 jours. Après ce temps, nous avons pratiqué l'examen à la cellule photoélectrique comme précédemment décrit.

Nous exprimons les résultats dans les tableaux suivants :

Graphique N° 1

Tableaux N° I et III

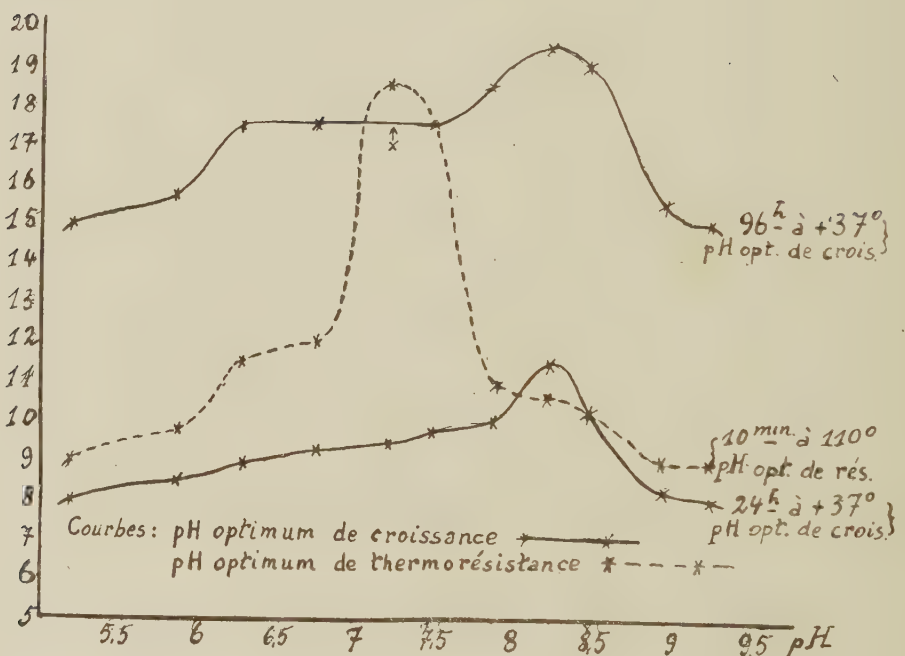


TABLEAU II

Résultats néphélomètriques des expériences sur le développement microbien par rapport au pH du milieu et du degré de chaleur employé pour la stérilisation.

Valeurs néphélomètriques

Degré de stérilisation..	+ 110°	+ 110°	+ 110°	+ 120°	+ 120°	+ 120°
Temps de stérilisation	10 minut	30 min.	60 min.	10 min.	30 min.	60 min.
Série des tubes.....	1	2	3	4	5	6
Milieu stérile	90.00	89.00	89.50	89.50	89.00	89.00
Milieu témoin.....	81.00	80.00	80.00	80.50	80.00	84.00
Milieu à pH = 5.20	81.00	80.00	80.00	80.50	80.00	84.00
5.83	80.25	80.00	80.00	80.00	79.25	84.00
6.27	78.50	78.00	78.00	78.00	79.50	83.50
6.75	79.00	77.00	78.25	77.00	77.00	84.00
7.22	71.50	73.00	76.00	73.00	75.50	81.00
7.49	72.50	74 50	76.00	72.50	76.50	80.25
7.82	79.00	78.25	78.50	78.00	78.50	82.75
8.21	79.25	79.00	78.50	78.50	79.00	84.00
8.48	79.75	79.00	79.00	79.50	80.00	74.00
8.82	81.00	80.00	80.00	80.50	80.00	84.00
9.20	81.00	80.00	80.00	80.50	80.00	84.00

TABLEAU N° III

Résultats néphélométriques des expériences sur le développement microbien par rapport au pH du milieu et au degré de chaleur employé pour la stérilisation.

Valeurs absolues

Degré de stérilisation.	+ 110°	+ 110°	+ 110°	+ 120°	+ 120°	+ 120°
Temps de stérilisation	10 min.	30 min.	60 min.	10 min.	30 min.	60 min.
Série des tubes.....	1	2	3	4	5	6
Milieu témoin.....	9.00	9.00	9.50	9.00	9.00	5.00
Milieu à pH = 5.20	9.00	9.00	9.50	9.00	9.00	5.00
5.83	9.75	9.00	9.50	9.50	9.75	5.00
6.27	11.50	11.00	11.50	10.50	9.50	5.50
6.75	12.00	12.00	11.25	12.50	12.00	5.00
7.22	18.50	16.00	13.50	16.50	12.50	8.00
7.49	17.50	14.50	13.50	17.00	12.50	8.75
7.82	11.00	10.75	11.00	11.50	10.50	6.25
8.21	10.75	10.00	11.00	12.00	10.00	5.00
8.48	10.25	10.00	10.50	10.00	9.00	5.00
8.82	9.00	9.00	9.50	9.00	9.00	5.00
9.20	9.00	9.00	9.50	9.00	9.00	5.00

En considérant ces tableaux, on voit que la résistance de notre bactérie envers la chaleur est maxima dans la zone de pH = 7,22 à pH = 7,49 et qu'elle décroît rapidement lorsque le milieu est plus acide ou plus alcalin. Ce fait semble assez curieux, car en comparant les résultats de cette expérience avec ceux de nos recherches sur le pH optimum de croissance, on se rend compte qu'il n'y a aucune relation entre ces deux facteurs. Alors que l'optimum de croissance se fixe dans les conditions habituelles vers le pH = 8,2, la résistance de notre bactérie vis-à-vis de la chaleur est maxima vers le pH = 7,3 ; ce qui démontre l'intervention d'autres facteurs et nous croyons que la notion du point isoélectrique doit prendre une certaine importance dans ce phénomène.

Toujours est-il que le pH optimum de croissance et le pH optimum de résistance contre la chaleur sont deux facteurs tout différents.

En examinant l'ensemble des résultats de cette expérience, on peut conclure que le *Clostridium bifermentans* possède un pouvoir de thermo-résistance très prononcé, puisque la vitalité de la spore dans un milieu liquide tamponné n'est pas détruite par un chauffage d'une heure à + 120°. Cependant, dans ces conditions, la zone de pH optimum de résistance contre la chaleur est nettement resserrée et se caractérise très manifestement, car au-delà du pH = 7,22 et du pH = 7,82, la revivification de la bactérie reste définitivement impossible.

Nous avons alors jugé utile d'effectuer des recherches analogues en employant à la place de notre milieu de culture synthétique, un substrat de conserve de pâté de foie que nous avons artificiellement (au moyen de solutions titrées de soude ou d'acide chlorhydrique) amené à des pH allant de 5,2 à 9,2 comme pour les expériences précédentes.

Ces substrats ont été inoculés au moyen de 0,1 cc³ de bouillon de souche-mère du *Clostridium bifermentans*, exposés ensuite pendant 24 heures à l'étuve à + 55°, puis stérilisés à l'autoclave à + 110° et + 120° comme dans l'expérience précédente.

La zone de pH optimum de résistance contre la chaleur se fixe également pour ces expériences entre pH = 7,2 et pH = 7,8, mais les substrats dont le pH a été bas, ont aussi été ceux qui permettaient d'obtenir le plus facilement la stérilisation. Les résultats obtenus à ce sujet, correspondent à ceux que nous avions constaté dans les milieux liquides synthétiques. Cepen-

dant les substrats de pâté de foie dont la zone de pH dépassait 7,82, et comprise entre pH = 8,21 et pH = 8,48, offraient une résistance plus marquée à la réalisation de la stérilisation définitive que celle déterminée pour les milieux liquides synthétiques.

D'après ces résultats, on aurait donc dans l'industrie des conserves de viande intérêt de stériliser à des pH aussi bas que possible, car c'est dans les sones inférieures à pH = 6,25 que la stérilisation est la plus rigoureuse et la plus facile à réaliser.

Ayant constaté ces variations et l'influence de la concentration en ions H des conserves sur leur stérilisation, nous avons essayé de déterminer les différents facteurs intervenant dans ces phénomènes.

La différence des résultats sur milieux synthétiques et sur substrats de pâté de foie nous a amené à contrôler la variation du pH pendant la stérilisation.

A cet effet, nous avons préparé deux séries de ballons de 200 cc^3 contenant une émulsion de pâté de foie dans notre milieu liquide synthétique à la proportion de 1/3. Ces substrats ont été amenés aux différents pH antérieurement mentionnés et formant ainsi une gamme de pH = 5,20 à pH = 9,20. C'est ces milieux qui nous ont servi à nos expériences.

Variation du pH pendant le chauffage.

Après avoir réparti les milieux et établi la concentration en ions H de chaque ballon, nous avons porté les deux séries de ballons à l'autoclave. Nous avons utilisé l'autoclave à vapeur et à purge continue, comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent.

Une série de ballon a été chauffée à + 110°, puis nous avons interrompu la stérilisation brusquement et nous avons retiré les milieux de l'autoclave pour les refroidir aussi rapidement que possible. Ceci fait, nous avons pratiqué les mesures ionométriques.

La seconde série de ballons nous a servis à la stérilisation définitive, c'est-à-dire que des milieux ont été amenés à + 120° et ont séjourné dans l'autoclave à cette température pendant 60 minutes. En suivant alors la technique habituelle de stérilisation, nous avons effectué finalement après refroidissement complet des ballons, nos mesures de pH.

Nous exprimons dans le tableau n° IV les résultats de ces recherches :

TABLEAU N° IV

Recherches sur la variation du pH pendant la stérilisation

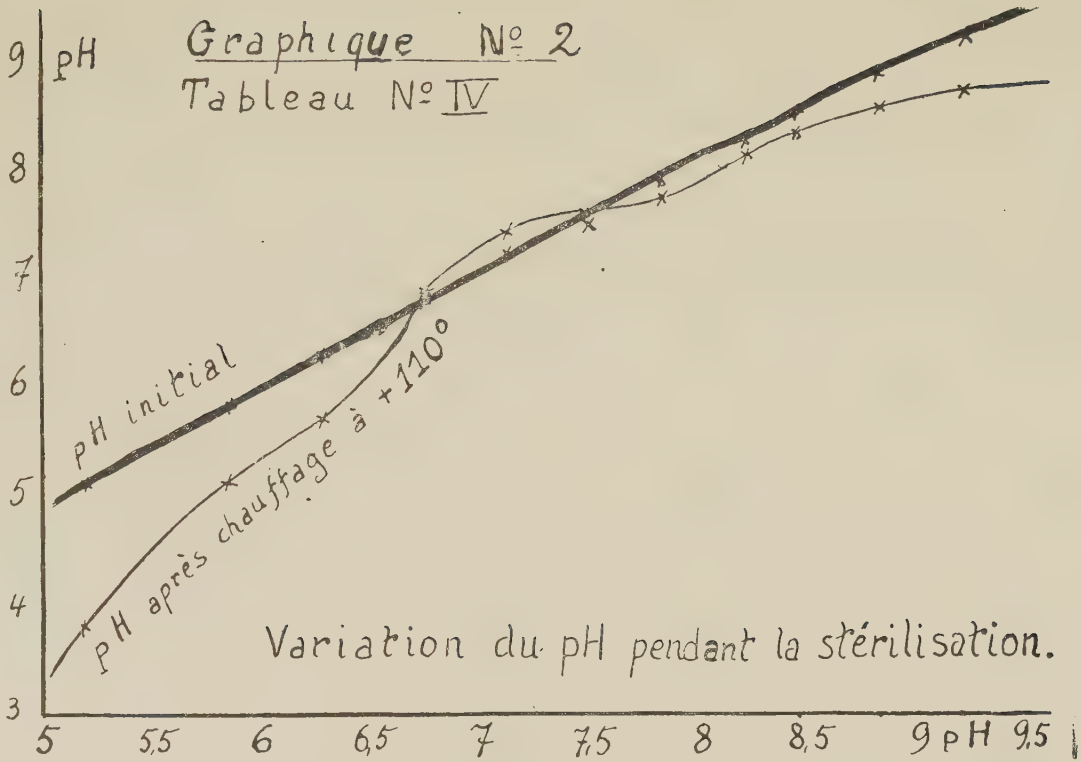
pH initial avant l'autoclavage	Série I pH après chauffage à + 110°	Série II pH final après la stérilisation définitive
5.20	3.78	3.95
5.83	5.14	5.33
6.27	5.67	5.56
6.75	6.78	6.85
7.22	7.42	7.40
7.49	7.56	7.53
7.82	7.70	7.82
8.21	8.18	8.15
8.48	8.25	8.28
8.82	8.50	8.52
9.20	8.70	8.92

On peut tirer deux observations principales de cette expérience :

La chaleur de l'autoclave modifie la concentration en ions H des substrats à base d'abats de viande. Cette modification se manifeste dès le premier stade de la stérilisation. Ensuite, la chaleur ne semble plus influencer la concentration en ions H.

Les pH des conserves de viande très acide au départ, ont une tendance très prononcée à augmenter encore. Dans la zone des pH optima de la résistance des bactéries contre la chaleur, c'est-à-dire entre les pH = 6,75 à pH = 8,2, la stérilisation ne modifie guère la réaction ionique du milieu et on peut remarquer que le pH des substrats peu acides diminue légèrement sous l'influence de la chaleur. Dans la zone des pH alcalins, la variation a tendance à ramener la concentration en ions H vers la neutralité.

Ces phénomènes de la variation du pH pendant la stérilisation peuvent être attribuées, à notre avis, à une élimination et à la transformation de tampons sous l'influence de la chaleur. Une certaine catégorie de tampons contenus dans les abats de viande doit entrer en solution et c'est surtout ces facteurs qui expliquent la variation du pH des substrats très acides.



Variation du pH pendant la stérilisation.

Pratiquement, il se dégage les constatations suivantes :

La stérilisation des conserves d'abats de viande est facilitée en l'effectuant dans des zones à pH modérément acides.

Il faut prendre comme base pour la stérilisation le pH du substrat préalablement chauffé et amené à titre d'essai à + 110°.

La zone la plus favorable à la thermorésistance des bactéries est comprise entre pH = 6,25 et pH = 7,50.

La stérilisation en fonction du pH et du nombre des spores.

Dans les essais précédents, nous avons constamment travaillé avec la même dose de spores, c'est-à-dire 0,1 cc³ de bouillon de souche-mère. Cette mesure correspond, d'après les recherches de SCHMITZ et notre contrôle préalable, à peu près à 300.000 spores.

Afin d'examiner l'influence du nombre des spores présentes initialement dans un substrat ou dans les conserves d'abats, nous avons effectué cinq séries d'expériences. La première série était ensemencée à l'aide de 0,1 cc³ d'une dilution de 1/10.000 du bouillon de souche-mère, cette dose correspondait donc à 30 spores environ.

La seconde série était inoculée au moyen de 0,1 cc³ d'une dilution de 1/1000 du bouillon de souche-mère (= 300 spores environ).

La troisième série était ensemencée à l'aide de 0,1 cc³ d'une dilution de 1/100 du bouillon de souche-mère (= 3000 spores environ).

La quatrième série était ensemencée au moyen de 0,1 cc³ d'une dilution de 1/10 du bouillon de souche-mère (= 30.000 spores environ).

La cinquième série était inoculée au moyen de 1 cc³ de bouillon de souche-mère (= 3.000.000 spores environ).

Cette expérience a été effectuée à deux reprises pour contrôler le rapport entre le nombre des spores initialement inoculées et le pH du substrat.

Dans la première recherche, tous les milieux ont été amenés au pH optimum de thermorésistance des pores de *Clostridium bifermentans*, c'est-à-dire à pH = 7,30.

Le second essai a été pratiqué dans la zone acide, plus favorable pour détruire les germes microbiens. Tous les substrats ont été ajustés à pH = 6,30 ; nous avions vu antérieurement

que cette concentration en ions H permettait encore la croissance du *Clostridium bifermentans* et la germination des spores.

TABLEAU N° V

Influence de la concentration des spores sur la stérilisation

Concentration initiale des spores par 100 cc³	Expérience n° I pH = 7,30 Stérilisation à + 110° — + 120° Minutes nécessaires pour réaliser la stérilité		Expérience n° II pH = 6,30 Stérilisation à + 110° — + 120° Minutes nécessaires pour réaliser la stérilité	
30	13	8	5	2
300	22	12	9	3
3.000	30	19	12	10
30.000	65	27	20	15
300.000	96	72	45	30
3.000.000	210	165	135	75

On voit donc que le nombre des spores initialement présentes dans un substrat destiné à être mis en conserve, a une influence considérable sur la stérilisation.

D'autre part, il ressort de cette expérience encore, l'importance primordiale qu'il faut attribuer à la réaction ionique des milieux si l'on veut obtenir une stérilisation définitive dans un minimum de temps, Ainsi, en comparant les temps de l'autoclavage de la première expérience (pH = 7,30) avec ceux de la seconde (pH = 6,30), on constate qu'il y a un rapport sensiblement égal à 2,5/1.

On se rend facilement compte de l'importance de ces deux facteurs, concentration initiale des spores et concentration en ions H du substrat, en prenant un exemple.

Lorsque dans une matière alimentaire se trouvent avant la stérilisation 30 spores et que le pH est sensiblement dans la zone de neutralité, 8 minutes à + 120° suffisent pour réaliser la stérilité du substrat. Une stérilisation de 15 à 20 minutes à +120° assurerait donc dans ce cas la destruction définitive des germes microbiens et permettrait d'obtenir des conserves stériles, car la marge de sécurité pour la stérilisation est large-

ment suffisante, étant donné que la destruction des spores est même assurée dans ce laps de temps à + 110°.

Cependant, si le nombre de spores infectant la denrée initialement, augmente et atteint 3.000 pour 100 gr., le chauffage de 15 à 20 minutes à + 120° ne suffira plus, car la marge de sécurité ne sera plus suffisante, la moindre inattention ou irrégularité pendant l'autoclavage pourra occasionner la survie des spores microbiennes et la conserve ne pourra pas être considérée comme stérile, étant susceptible de s'altérer par la suite.

Ce fait ne se produirait pas, si on avait pris soin de déterminer le pH de la conserve sur un échantillon préalablement chauffé, car la stérilité serait assurée dans les conditions ci-dessus mentionnées, si on avait réajusté le pH de la denrée vers pH = 6,30, c'est-à-dire dans la zone de la moindre thermorésistance des spores.

Il est intéressant, à ce sujet, de connaître les facteurs influençant la contamination des denrées destinées à être travaillées dans les fabriques de conserves. Nous citons ici les points essentiels constatés par Cameron, Williams et Thompson (63), d'un côté, par Cheftel (42) de l'autre côté :

1° « Les spores des micro-organismes thermophiles provoquant le plus souvent l'altération des conserves (bombage, surissement ou putréfaction sulfureuse), se trouvent rarement en grand nombre dans le sol ou sur le produit frais ».

2° Dans les fabriques de conserves, « la contamination présente toujours un maximum le matin, à la reprise du travail, après l'arrêt pendant la nuit. Chaque arrêt dans la fabrication crée des conditions favorables à son augmentation par suite du développement des germes dans les appareils toujours souillés de jus nutritifs. De même, la contamination décroît régulièrement au cours de la marche ininterrompue de l'usine, car les microbes qui se sont développés pendant les arrêts sont entraînés au fur et à mesure par les liquides.

3° « Les récipients en bois employés pour le jus se contaminent très facilement et deviennent les foyers mêmes de l'infection. De même, les récipients employés pour l'eau chaude. Ceci tient à ce que le bois est poreux et s'imbibe facilement de liquide ; il retient ainsi les jus, où les microbes trouvent un terrain très favorable, et se laisse difficilement nettoyer. »

4° « Les appareils de blanchiment, les cuiseurs, les appareils de remplissage peuvent aussi devenir des foyers secondaires d'infection. »

5° « Le sucre et le sel employés pour la préparation des jus peuvent aussi devenir des véhicules importants de germes et constituent parfois la source première de contamination de l'usine. »

Nous pouvons ajouter d'après les expériences que nous avons faites :

6° Le contrôle préalable du pH des produits préparés pour la conservation a une importance capitale pour réaliser une sécurité suffisante contre la contamination ultérieure.

7° Le temps de stérilisation d'une conserve est en rapport avec le pH initial du substrat, avec la variation de ce pH pendant la stérilisation et avec le nombre des spores initialement présentes dans les denrées à conserver.

CHAPITRE X

RAPPORT ENTRE LA VITESSE DE PÉNÉTRATION DE LA CHALEUR ET LA STÉRILITÉ DES CONSERVES

Nous avons précédemment pu mettre en évidence trois facteurs intervenant dans la stérilisation parfaite des conserves : le pH initial, la variation du pH pendant la stérilisation et la concentration initiale de spores microbiennes.

Au cours de ces recherches, nous avons déjà remarqué que d'autres facteurs, non moins importants, jouent un rôle primordial pour la réalisation d'une stérilité définitive des conserves.

C'est ainsi que le degré de chaleur et la durée de stérilisation interviennent pour une forte part dans ce problème. Nous avons vu qu'il n'existe pas une température fixe qui puisse être appelée « température stérilisatrice ». Nous savons que toutes les bactéries sont tuées si elles sont soumises assez longtemps à une température trop haute pour leur permettre de se développer.

Ce but peut être atteint de deux façons :

Ou bien par un chauffage rapide, de courte durée à une très haute température, ou bien par un chauffage de longue haleine et à une température moins élevée.

Ces deux procédés ont chacun leurs avantages et leurs désavantages par rapport à la qualité des conserves à préparer. Nous aurons l'occasion d'y revenir.

Un autre facteur important pour réaliser la stérilisation définitive en rapport avec la température et la durée de l'autoclavage est la vitesse de pénétration de la chaleur à travers les boîtes de conserves et le contenu même de la boîte.

Deux phénomènes interviennent à ce sujet selon la composition et la constitution de la conserve.

En effet, la pénétration de la chaleur de l'extérieur à l'intérieur d'une boîte de conserve est soumise aux lois de la conduction et de la convection.

« La conduction est la transmission de la chaleur d'une molécule à l'autre. » Le fer, par exemple, est un bon conducteur de la chaleur, alors que le bois est un mauvais conducteur.

« La convection, d'autre part, est la transmission de la chaleur dans un milieu liquide ou gazeux, par les mouvements ou courants de liquide ou de gaz. Ces mouvements sont provoqués par la dilatation thermique d'une portion du liquide ou du gaz. A la suite de la diminution de la densité de la portion chauffée par rapport à celle du liquide froid, la portion chaude a tendance à monter à la surface en se mélangeant avec la partie froide, qui se trouve refoulée en profondeur. Par ce phénomène des courants de convection prennent naissance. occasionnant un brassage énergique du liquide contenu dans la boîte de conserve.

On voit donc que la loi de convection n'intervient que pour les conserves liquides ou semi-liquides. Au contraire, dans le cas d'une conserve solide et compacte, mise en boîte sans addition de jus, la transmission de la chaleur ne se fait que par conduction.

On conçoit donc que la constitution liquide, semi-liquide ou solide a une grande importance pour la stérilisation d'une conserve, car la vitesse de pénétration de la chaleur de l'autoclave se fait dans les deux premiers cas par convection et la chaleur se répartit à l'intérieur de la boîte beaucoup plus rapidement et plus uniformément que dans le cas d'une denrée solide, où la répartition de la chaleur s'effectue uniquement suivant les lois de la conduction. On voit donc que la vitesse de pénétration de la chaleur de la périphérie de la boîte de conserve vers le centre dépend de la grandeur du format de la boîte même et de la constitution du contenu de la boîte.

C'est donc la température du centre de la boîte qu'il faut mesurer et qu'il faut prendre pour base de toute étude sur la stérilisation des conserves. Il est donc absolument erroné de

vouloir se fier aux indications du manomètre posé généralement à l'extérieur des autoclaves.

Pour étudier ce problème, nous avons donc employé un autoclave spécial, dont nous avons donné la description détaillée dans le chapitre huitième.

Le contrôle de la température à l'intérieur et au centre de substrats employés dans nos expériences a été effectué d'après les prescriptions du département de l'Agriculture des Etats-Unis et la National Canners Association à l'aide d'un couple thermo-électrique permettant des mesures exactes et commodes à chaque instant de l'autoclavage.

A cet effet, nous avons utilisé un dispositif semblable à l'aiguille électrique de BECQUEREL, une soudure du couple thermo-électrique ayant été placée au centre de la boîte dont nous avons voulu déterminer la température, l'autre soudure se trouvait dans l'eau de l'autoclave. On chauffe l'autoclave jusqu'à ce que le courant qui passe par le galvanomètre fixé à l'extérieur de l'autoclave, soit nul. Les températures des soudures du couple thermo-électrique sont alors égales, il suffit de mesurer celle de l'intérieur de l'autoclave au moyen du thermomètre à mercure fixé sur la poche latérale de l'autoclave et de mesurer en même temps la durée de la stérilisation à ce moment.

Nous avons eu recours, en outre, à des indicateurs de température, appelés aussi « mouchards ».

A cet effet, nous nous sommes servi de quatre indicateurs fusibles, introduits dans des petits tubes de verre scellés et suspendus par un fil métallique, aussi rigoureusement que possible au centre du contenu des différentes boîtes de conserves utilisées à ce sujet. La composition de ces indicateurs de température a été la suivante :

1°	Benzonaphtol.	100 gr.
	Safranine.	0 gr. 01

Pour la température de + 110°.:

2°	Soufre en poudre.	100 gr.
	Fuchsine.	0 gr. 01

Pour la température de + 115° :

3°	Antipyrine.....	100 gr.
	Bleu de méthylène.	0 gr. 01

Pour la température de + 113° :

4° Acide benzoïque..... 100 gr.
Vert brillant..... 0 gr. 01

Pour la température de + 120°.

Lorsqu'on constate après refroidissement de l'autoclave à la sortie des boîtes de conserves, que ces indicateurs ont fondu et se sont uniformément colorés soit en jaune, soit en rouge, soit en bleu, soit enfin en vert, on peut être certain que la stérilisation a été effectuée au centre de la boîte à la température de + 110°, + 115°, + 113° ou + 120°.

Nos expériences pour contrôler l'influence des phénomènes de conduction et de convection de la chaleur sur la stérilisation des produits de conserves ont été effectuées selon le plan suivant :

Nous avons commencé nos essais à la suite d'une première expérience que nous avions faite au moyen de notre milieu liquide synthétique et notre substrat de pâté de foie préparé en émulsionnant une partie de pâté de foie avec trois parties de notre milieu synthétique. Les résultats que nous avons obtenus au cours de cette expérience et que nous rapportons plus loin, nous ont amené à élargir nos investigations à ce sujet, qui ont ensuite porté sur les points suivants :

1° Rapport de la vitesse de pénétration de la chaleur entre un milieu synthétique liquide et une émulsion de pâté de foie de 1/3.

2° Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la consistance d'un produit. Influence de substances colloïdales sur la vitesse de pénétration de la chaleur.

3° Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le poids d'un produit.

4° Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le volume des différentes boîtes de conserves habituellement utilisées.

Nous avons disposé à l'intérieur de l'autoclave deux boîtes, dont l'une contenait notre milieu liquide et l'autre l'émulsion de pâté de foie. Dans les deux boîtes nous avions placé au centre nos tubes témoins pour contrôler la température. Le thermomètre à mercure et le manomètre de contrôle indi-

quaient la température de + 120° après 35 minutes de chauffage. A ce moment, nous avons interrompu le chauffage, nous avons sorti les deux boîtes et nous les avons refroidi dans de l'eau à + 20°. A l'ouverture, le tube-mouchard à l'acide benzoïque de la boîte contenant notre milieu liquide, témoignait que la température de 120° avait été atteinte. Dans la boîte à émulsion de pâté de foie aucun tube-mouchard avait subi une modification. Par conséquent, à ce moment, la température de + 110° n'avait pas encore été atteinte.

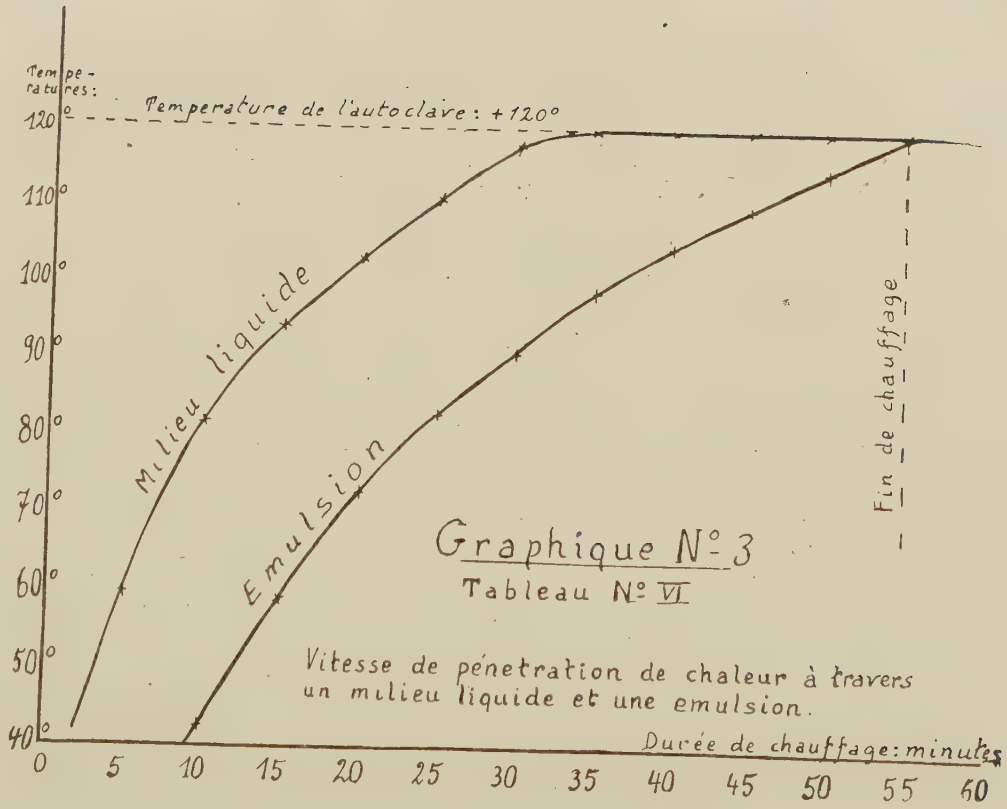
Nous avons répété cette expérience en interrompant le chauffage après 40, 45, 50 et 55 minutes et nous avons pu constater que la boîte contenant l'émulsion était après 45 minutes seulement à + 110° (mouchard au Benzonaphtol), après 50 minutes le mouchard au soufre avait fondu et après 50 minutes le centre de cette boîte avait enfin atteint la température de+ 120°.

Nous avons alors repris cette expérience en fixant au centre de chacune des deux boîtes l'une des soudures du couple thermo-électrique, disposée selon le principe de l'aïguille électrique de Becquerel. Nous donnons dans le tableau suivant les différentes mesures que nous avons pu établir pour les deux sortes de substrats en expérience.

TABLEAU N° VI

Rapport de la vitesse de pénétration de la chaleur entre un milieu liquide synthétique et une émulsion de paté de foie à 1/3.

Durée du chauffage en minutes	Température atteinte au centre de la boîte		Différence de temps en minutes
	1° Dans le milieu liquide	2° Dans l'émulsion	
0	12	12	0
5	60	19	41
10	82	43	39
15	94	59	35
20	103	73	30
25	111	83	28
30	118	91	27
35	120	99	21
40	120	105	15
45	120	110	10
50	120	115	5
55	120	120	0



Graphique N° 3

Tableau N° VI

Vitesse de pénetration de chaleur à travers un milieu liquide et une emulsion.

Les deux expériences ont donc montré que la vitesse de pénétration de la chaleur est beaucoup plus lente pour un substrat émulsionné, où la chaleur se propage en partie par des phénomènes de conduction.

Par cette expérience, on se rend compte de l'importance de la mesure de la vitesse de pénétration de la chaleur pour la stérilisation des conserves. Car, après un chauffage de 35 minutes l'autoclave étant monté à + 120°, la boîte contenant notre milieu liquide avait donc après 55 minutes effectivement séjourné pendant 20 minutes à cette température et son contenu pourrait être considéré comme définitivement stérilisé.

Il en est tout autre pour la boîte à émulsion de pâté de foie au 1/3. Le centre de cette boîte atteint la température de + 120° juste au moment où normalement la période de stérilisation est considérée comme terminée, car l'autoclave avait été maintenu pendant 20 minutes à + 120°. Cette émulsion contaminée par des spores microbiennes ne sera donc jamais stérilisée dans ces conditions.

On voit ainsi que la consistance d'un produit joue un grand rôle et pour cette raison nous avons continué nos expériences dans ce sens.

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la consistance d'un produit.

Influence des substances colloïdales sur la vitesse de pénétration de la chaleur.

Lors de nos expériences antérieures, nous avons pu constater que les variations du pH pendant la stérilisation peuvent être attribuées à une élimination et à la transformation de tampons sous l'influence de la chaleur. Nous avons dit qu'une certaine catégorie de tampons contenus dans les abats de viande doit entrer en solution et ce sont ces facteurs qui expliquent la variation du pH des substrats.

D'autre part, nous avions constaté qu'il n'y avait pas de rapport direct entre le pH optimum de croissance et le pH optimum de résistance des bactéries vis-à-vis de la chaleur. Nous avons pensé que le rôle du point isoélectrique prend une importance dans ces phénomènes.

Ayant constaté la différence de la vitesse de pénétration de la chaleur entre un milieu liquide et l'émulsion de pâté de foie, nous avons pensé que les colloïdes pourraient avoir une certaine

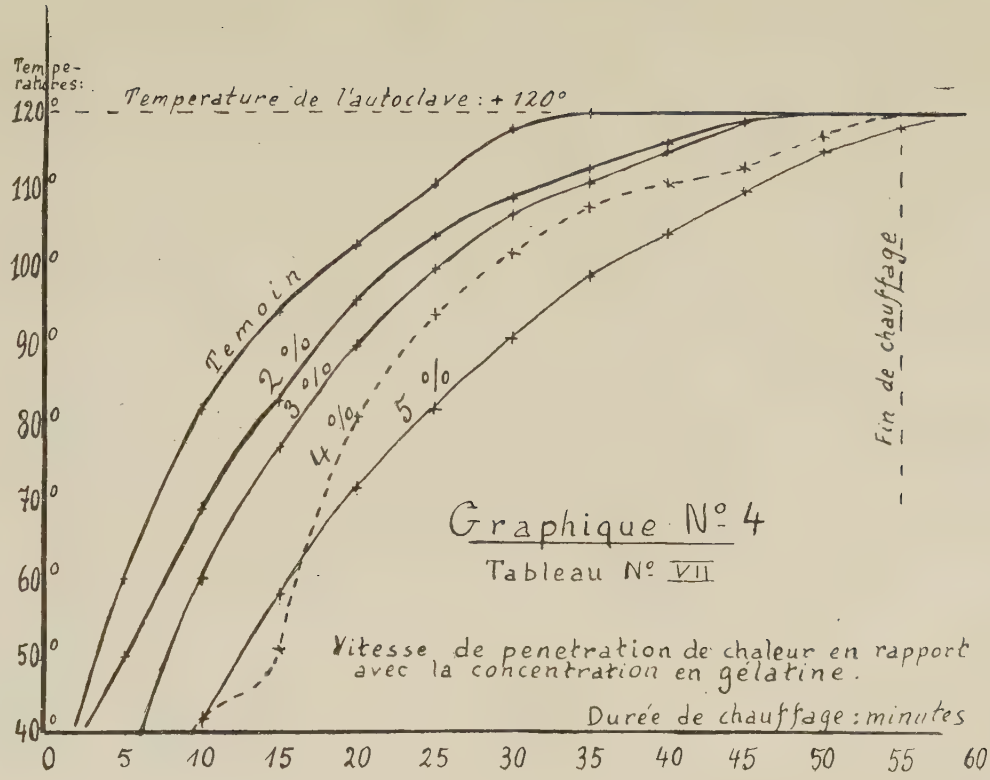
influence dans ces processus. C'est pour cette raison que nous avons entrepris des essais au moyen de notre milieu liquide synthétique auquel nous avons ajouté des quantités progressivement croissantes de gélatine d'un côté, d'amidon de l'autre côté, ceci en considération de la consistance et la composition des pâtés de foie utilisés comme point de départ de nos recherches.

Nous avons donc préparé des solutions colloïdales à 2, 3, 4, 5, 6, 8 et 10% de gélatine et d'amidon dissous dans notre milieu liquide synthétique. Nous rapportons dans les tableaux nº VII et VIII les résultats de ces expériences.

TABLEAU Nº VII

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la concentration en gélatine du substrat

Durée de chauffage en minutes	Températures atteintes au centre de la boîte de conserve							
	Milieu liquide synthétique	Milieux à concentration en gélatine de						
		2%	3%	4%	5%	6%	8%	10%
0	12	12	12	12	12	12	12	12
5	60	50	37	33	29	29	28	28
10	82	69	60	42	42	41	41	41
15	94	83	77	51	58	57	57	57
20	103	96	90	81	72	71	71	71
25	110	104	100	94	82	82	81	81
30	118	109	107	102	91	91	91	91
35	120	112	111	108	99	99	98	98
40	120	116	115	111	104	103	103	103
45	120	119	119	113	110	110	109	109
50	120	120	120	117	115	115	114	114
55	120	120	120	120	118	118	118	118



Graphique N° 4

Tableau N° VII

Vitesse de penetration de chaleur en rapport avec la concentration en gélatine.

TABLEAU N° VIII

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la concentration en amidon du substrat

Durée de chauffage en minutes	Températures atteintes au centre de la boîte de conserves							
	Milieu liquide synthétique	Milieux à concentration en amidon de :						
		2%	3%	4%	5%	6%	8%	10%
0	12	12	12	12	12	12	12	12
5	60	41	41	32	37	37	37	37
10	82	63	52	49	51	49	49	49
15	94	78	63	60	61	59	58	58
20	103	90	78	70	71	68	67	67
25	110	100	86	80	79	75	74	74
30	118	108	94	89	84	81	80	80
35	120	115	101	97	90	86	86	85
40	120	118	108	104	95	91	91	90
45	120	120	113	109	100	95	95	95
50	120	120	118	113	104	99	99	99
55	120	120	120	118	108	103	103	103

L'interprétation de ces résultats permet tout d'abord de constater que la présence de gélatine ou d'amidon dans un substrat exerce une influence inhibitrice très marquée sur la vitesse de pénétration de la chaleur. Cette action se fait déjà remarquer avec des concentrations de 2%.

La vitesse de pénétration de la chaleur est encore plus retardée par la présence de la gélatine que par celle de l'amidon. Pour ce dernier, la concentration de 2 % occasionne un retard du temps de stérilisation à + 120° de 10 minutes, de sorte que la stérilité du produit ne peut plus être considérée comme garantie.

La présence de 3% de gélatine ou d'amidon retarde la vitesse de pénétration de la chaleur, à tel point que le centre de notre boîte atteint justement la température de stérilisation de + 120° au moment où l'on interrompt le chauffage, puisque la température ambiante à l'intérieur de l'autoclave avait été maintenue pendant 20 minutes à + 120°.

A partir d'une concentration de 4% d'amidon et de 5%

de gélatine, la température de + 120° n'est même plus atteinte dans le temps normal de stérilisation d'une solution ou d'un liquide non-colloïdal.

Il est intéressant de noter qu'avec les deux colloïdes amidon et gélatine, la courbe de température du substrat à 4% suit un trajet légèrement modifié par rapport aux courbes des solutions de concentrations plus petites et plus fortes. C'est avec cette teneur de 4% d'amidon ou de gélatine que les phénomènes de convection et de conduction de la chaleur doivent jouer en même temps et exercer ainsi leur influence réciproque, se traduisant par l'aspect helicoïdal de la courbe de vitesse de pénétration de la chaleur.

Pour la gélatine, une concentration de 5% suffit pour enrayer complètement les courants de convection de la chaleur, celle-ci ne se répand à l'intérieur du substrat gélatiné que par les règles de la conduction. En examinant les courbes des solutions de 5, 6, 8 et 10% de gélatine, on constate que la chaleur pénètre vers le centre des boîtes d'une façon identique et l'allure des courbes de température reste stable.

Pour l'amidon, le même phénomène se manifeste à partir d'une concentration de 6%. Les courbes des solutions de 6, 8 et 10% sont à peu près identiques.

A partir d'une concentration en gélatine de 5% et en amidon de 6%, l'influence de la quantité de colloïdes présente dans le substrat devient donc négligeable, l'action conductrice de chaleur est devenue stable et se manifeste par un retard de transmission de chaleur jusqu'au centre de la boîte de conserve d'environ 30 minutes par rapport à la solution vraie, témoin, où seules les lois de convection se manifestent.

On se rend donc compte de l'importance de la présence de substances colloïdales dans les produits destinés à la conserverie, car des substrats contenant plus de 5% de gélatine ou de 6% d'amidon soumis à la stérilisation dans les conditions habituelles, sans les précautions ci-dessus indiquées, auraient été considérées comme stériles sans avoir même atteint la température de 120°.

Pour les conserves de viande et d'abats de viande, l'influence de la gélatine ne doit donc jamais être négligée; quant à l'action de l'amidon, elle entre en ligne de compte surtout pour des conserves de légumes secs, tels que les petits pois, les haricots.

Il ne faudrait pas oublier que pendant le chauffage pour stériliser les produits, une certaine quantité de gélatine ou d'ami-

don est solubilisée, la concentration en colloïdes n'est pas stable et le temps de stérilisation ne peut être considéré que fixe à partir du taux de 5% pour la gélatine, de 6% pour l'amidon.

Notons, que pour les conserves de fruits la présence de la pectine comme substance colloïdale doit exercer une influence semblable.

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le poids d'un produit.

Après avoir étudié l'influence des substances colloïdales sur la vitesse de pénétration de la chaleur et ayant été fixé sur les principes à observer pour la stérilisation de produits contenant ces colloïdes, nous avons cru intéressant d'examiner le rôle du poids d'une conserve introduite dans une boîte par rapport à la vitesse de pénétration de la chaleur.

A cet effet, nous nous sommes servi de boîtes de conserve désignées couramment dans la conserverie par « boîtes 4/4 ». Nos expériences ont été pratiquées à l'aide d'une solution de 10% de gélatine, indiquée précédemment. Le gel ainsi obtenu après refroidissement a été introduit d'une façon irrégulière dans la boîte et nous avons ainsi préparé trois boîtes contenant des poids différents :

Boîtes nº I.	580 gr.
Boîtes nº II.	710 gr.
Boîtes nº III.	825 gr.

La pénétration de la chaleur a été contrôlée comme dans les expériences précédentes.

Nous donnons dans le tableau nº IX les résultats de ces expériences :

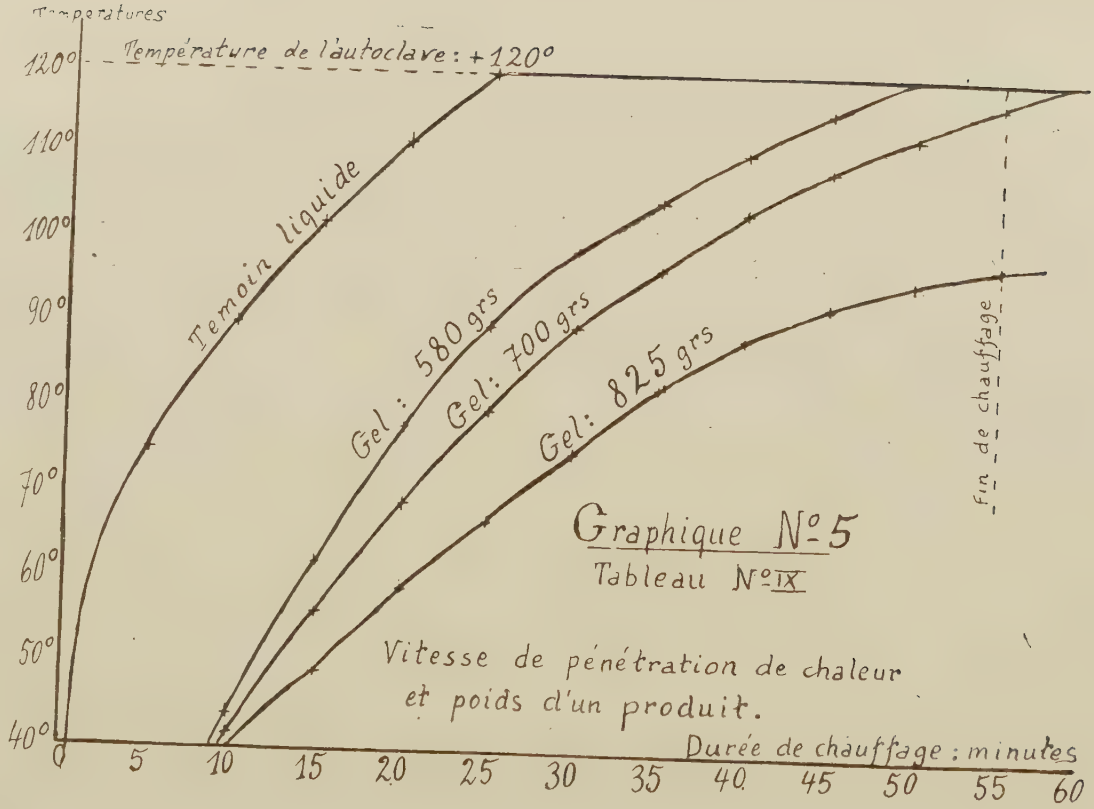
TABLEAU N° IX

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le poids d'un produit

Durée du chauffage en minutes	Températures atteintes au centre des boîtes de conserves 4/4			
	Milieu liquide synthétique	Substrats à 10% de gélatine Contenu des boîtes		
		580 gr.	700 gr.	825 gr.
0	18°	18°	18°	18°
5	75	35	30	30
10	90	44	42	40
15	102	62	56	49
20	114	78	69	59
25	120	90	80	67
30	120	99	90	75
35	120	105	97	83
40	120	111	104	89
45	120	116	109	93
50	120	120	113	96
55	120	120	117	98

En consultant les courbes de température obtenues dans ces expériences, on remarque que le centre des boîtes contenant 580 gr. de produit à stériliser, se trouve au moins quinze minutes à la température de 100°, nécessaire pour garantir la stérilité de la conserve, alors que les boîtes de 700 gr. étaient maintenues pendant environ dix minutes seulement à la température de stérilisation et le centre des boîtes de 825 gr. n'avait même pas atteint dans nos conditions expérimentales la température de l'autoclave.

Il ressort donc de ces expériences que la valeur stérilisante de l'autoclavage dépend en grande partie du poids et par conséquent du remplissage des boîtes. Ce fait est en relation avec différents facteurs, que nous n'avons pas examiné en détails, mais que nous tenons à mentionner ici ; nous pensons que la consistance des conserves, la présence de volume d'air plus ou moins grand dans les interstices de la matière alimentaire, les phénomènes de la conduction et de la convection de la chaleur interviennent dans cette expérience sur l'influence du poids d'un produit de conserve introduit dans des boîtes de même taille.



Graphique N° 5

Tableau N° IX

Vitesse de pénétration de chaleur et poids d'un produit.

A la suite des résultats de cette expérience, on peut se rendre compte de l'importance du « préchauffage » des boîtes de conserve. Dans l'industrie des conserves on appelle « préchauffage » la manipulation actuellement couramment utilisée, de chauffer les boîtes de conserves non serties dans des appareils spéciaux, les « exhausters », à une température de 60° à 85°, suivant les produits à stériliser, avant de les porter définitivement dans l'autoclave pour la stérilisation.

Cette technique a pour but de chasser l'air contenu dans les produits emboîtés. La pression intérieure de la boîte pendant la stérilisation est ainsi notablement diminuée et on obtient après la stérilisation et le refroidissement un vide partiel dans la boîte, qui évite les phénomènes de flochage et de becquets des boîtes de conserve.

Le sertissage à chaud des boîtes de conserves présente d'après Magoon et Culpepper (64) encore d'autres avantages :

L'absence de l'air empêche l'action nuisible de la chaleur sur la qualité des conserves et leur aspect extérieur ; elle empêche également l'attaque du fer-blanc de la paroi intérieure des boîtes.

La durée de la stérilisation est abrégée d'une façon notable, les couches périphériques des produits emboîtés ne sont ainsi pas soumises à un chauffage trop long.

Le temps d'autoclavage est nettement diminué et permet ainsi un emploi plus rationnel pour l'exploitation des autoclaves.

On voit donc que le préchauffage est d'un grand intérêt et l'emploi de cette technique diminue les risques résultant du remplissage inégal des boîtes. Le poids et la consistance des conserves introduites dans des boîtes de même volume jouent cependant un rôle non négligeable pour la bonne stérilisation d'une conserve et ces deux facteurs devraient être contrôlés pour chaque lot à soumettre à l'autoclavage.

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le volume des boites de conserve.

L'influence des dimensions de la boîte de conserve sur le temps de stérilisation est un facteur connu ; nous savons, en effet, qu'un récipient plus grand se chauffe plus lentement qu'un récipient plus petit. Ce phénomène est dû à deux facteurs principalement :

1° La pénétration de la chaleur est en rapport direct avec la distance à parcourir entre le centre et la surface.

2° La pénétration de la chaleur est inversement proportionnelle au rapport entre la surface et le volume d'une boîte. Ce rapport est plus grand pour les petits formats.

Nous avons contrôlé l'influence des dimensions des boîtes sur le temps de stérilisation et la vitesse de pénétration de la chaleur au moyen de notre solution de 10% de gélatine et de pâté de foie. Nous avons employé des boîtes de grandeurs différentes, désignées dans l'industrie de conserves sous les signes de :

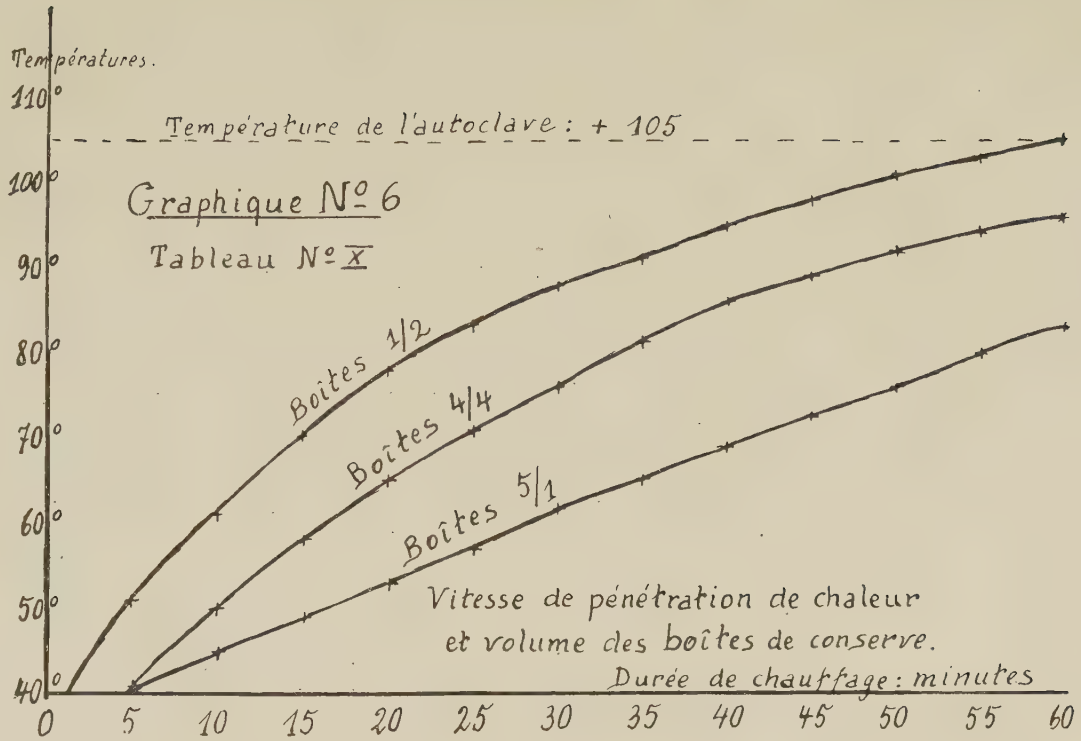
« Boîtes 1/2 »,
« Boîtes 4/4 » et
« Boîtes 5/1 ».

Ces boîtes ont été remplies avec notre gel à stériliser et ont été soumises à un préchauffage de + 40° avant l'autoclavage. Nous rapportons dans le tableau suivant (n° X) les températures, que nous avons pu mesurer par rapport à la durée de l'autoclavage. La température maxima intérieure de l'autoclave a été réglée à + 105°.

TABLEAU N° X

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le volume des boites de conserve

Durée du chauffage en minutes	Températures atteintes au centre des boîtes de conserve		
	Boîtes 1/2	Boîtes 4/4	Boîtes 5/1
0	40°	40°	40°
5	51	41	41
10	61	50	45
15	70	58	49
20	78	65	53
25	83	71	57
30	88	76	62
35	91	82	65
40	95	86	69
45	98	89	73
50	101	92	76
55	103	94	80
60	105	96	83


Températures.
110°
100°
90°
80°
70°
60°
50°
40°
Température de l'autoclave : + 105
Graphique N° 6
Tableau N° X
Boîtes 1/2
Boîtes 4/4
Boîtes 5/1
Vitesse de pénétration de chaleur
et volume des boîtes de conserve.
Durée de chauffage : minutes
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60

Ce tableau donne les températures au centre des boîtes remplies de notre pâté de foie gélatiné et chauffées en même temps dans l'autoclave à + 105°. D'après ces résultats, on constate que le centre de la boîte 1/2 a atteint la température de l'autoclave dans 60 minutes, alors que le contenu de la boîte 4/4 n'a atteint pendant ce même laps de temps que 96° ; pour arriver à la température de + 105°, cette boîte aurait dû séjourner à l'autoclave pendant environ 90 minutes. Le centre de la boîte 5/1 n'est arrivé qu'à 84° pendant les 60 minutes de l'autoclavage.

On voit donc que le volume des boîtes a une importance capitale sur le temps de stérilisation des conserves.

Bigelow (57) a pu établir que l'influence du volume des boîtes sur la pénétration de la chaleur s'exerce suivant une règle mathématique pour un produit déterminé. Cheftel exprime ce fait de la façon suivante :

« En général, pour les boîtes cylindriques dont la hauteur est supérieure au diamètre, le temps nécessaire pour que la chaleur atteigne le centre, est sensiblement proportionnel au carré du rayon. Cette règle permet de calculer approximativement la durée de la pénétration de la chaleur dans les boîtes de divers formats, lorsqu'on la connaît pour un format. Cependant, elle ne s'applique avec assez de précision qu'aux produits denses.

Le tableau suivant (n° XI), donne les facteurs permettant de faire rapidement ce calcul, pour les formats légumes les plus usités en France, ainsi que pour les boîtes n° 2 et n° 3 américaines.

Chaque colonne indique le facteur par lequel il faut multiplier la durée de pénétration de la chaleur, d'une boîte d'un autre format, afin d'obtenir la durée de pénétration de la chaleur pour le format de boîte indiqué en tête de la colonne :

TABLEAU N° XI

	Boîte 1/2	Boîte N° 2	Boîte 4/4	Boîte N° 3	Boîte 5/1
Boîte 1/2 (71,5 × 114)..	1	1.49	1.97	2.30	4.60
Boîte n° 2 (87,3 × 115,9	0.67	1	1.32	1.50	3.10
Boîte 4/4 (100 × 117,5).	0.51	0.76	1	1.17	2.30
Boîte n° 3 (108 × 123,8).	0.44	0.68	0.86	1	2.00
Boîte 5/1 (153 × 243). ..	0.22	0.33	0.43	0.50	1

Les valeurs exprimées dans ce tableau ne peuvent être appliquées à l'exemple précédent, concernant nos propres expériences, étant donné que nous avons utilisé la technique du préchauffage, qui modifie les conditions indiquées par BIGELOW.

Il nous semble que les facteurs calculés par BIGELOW ne sont pas applicables aux produits contenant des colloïdes. Si nous choisissons, un exemple de nos expériences nous constatons les faits suivants pour une température de + 86° environ.

Les boîtes 1/2 atteignent 86° après 30 minutes.
Les boîtes 4/4 atteignent 86° après 40 minutes.
Les boîtes 5/1 atteignent 84° après 60 minutes.

D'après ces résultats et dans nos conditions expérimentales, les indices de la durée de pénétration de la chaleur pour les boîtes 4/4 seraient de 1,33 environ et pour les boîtes 5/1 de deux environ par rapport à celle de la boîte 1/2.

Nous avons limité notre expérimentation à l'examen de ces quatre facteurs physiques intervenant, comme nous avons pu le démontrer, dans la stérilisation des conserves. Sans la connaissance approfondie de ces facteurs :

Température et durée de la stérilisation,
Vitesse de pénétration de la chaleur,
Volume, poids et consistance du produit à stériliser et
Concentration initiale en ions H+ du produit,

la stérilisation devient une opération illusoire, qui échappe entièrement au contrôle de ceux qui l'emploient.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Notre travail sur les causes d'altération des conserves de viandes et d'abats et sur la diminution de la valeur alimentaire de ces produits a été élaboré en trois parties.

Dans la première partie, qui constitue dans ses grandes lignes l'historique de la question, nous avons essayé de donner un aperçu de l'importance de l'industrie des conserves en général et pour la France en particulier. Nous avons illustré le développement de cette industrie par des statistiques, qui prouvent d'une façon irréfutable l'évolution progressive et l'importance de cette fabrication pour notre pays.

Nous avons ensuite examiné les causes d'altération des conserves de viande et des abats, tel que l'on envisage actuellement le problème. Nous passons en revue les principales bactéries susceptibles d'altérer les conserves de viande et d'abats après l'abatage des animaux de boucherie, et nous avons surtout insisté sur le rôle des bactéries sporogènes anaérobie, thermo-résistantes, dangereuses pour la conserverie.

Nous arrivons aux conclusions suivantes à la suite de nos investigations : les maladies qui résultent de la consommation de conserves de viande avariées, peuvent être classées en deux catégories :

1° Les intoxications alimentaires endogènes, dues à l'altération de la conserve même, qui représente l'agent toxique directement.

2° Les intoxications alimentaires exogènes, résultat de l'ingestion de conserves apparamment saine et normales au point de vue aspect extérieur et propriétés organoleptiques. Ces intoxications peuvent être classées de la façon suivante :

a) Les toxines chimiques ;

b) Les toxines bactériennes préformées ;

c) Les toxines bactériennes élaborées *in vivo* après l'ingestion des conserves et dues à la multiplication *in situ* de quelques microorganismes absorbés avec les conserves.

d) Les bactéries mêmes, polluant les conserves à l'état de spores ou de vie ralentie, germes ayant été absorbées avec les conserves et agissant par leur action pathogène directe.

Les travaux récents effectués aux Etats-Unis d'Amérique et dans quelques autres pays d'Europe ont montré que la technique de stérilisation joue un rôle primordial dans la préparation des conserves qui doivent être garanties contre l'infection bactérienne. A ce sujet, on a constaté que la température à laquelle il faut élever un produit pour détruire les microorganismes et que la durée de chauffage dépendent de la constitution du produit. La présence de bactéries vivantes, ne formant pas de spores, dans des boîtes de conserves, soumises cependant à des températures élevées, nous a confirmé ces constatations antérieures.

Le problème devient encore plus délicat, si l'on considère les bactéries sporogènes. Nous avons relaté dans un tableau la thermorésistance de ces organismes et nous avons pu établir que non seulement les spores de ces bactéries sont très thermostabiles, mais que leurs toxines secrétées sont également très dangereuses à ce point de vue. Nous avons ainsi vu que la toxine du *Clostridium sporogenès* résiste à une ébullition de plusieurs minutes, celle du *Clostridium sordelli* ne devient inactive qu'après 30 minutes de chauffage à + 60°, alors que la toxine du *Clostridium saprotoxicum*, proche parent du *Clostridium sporogenès*, est complètement thermostabile en milieu acide.

Il faut, en outre, retenir que les toxines des *Sporogénidées*, bactéries spécifiquement douées à la contamination des conserves, diffèrent pour le même organisme suivant les conditions de culture et de substrat, suivant le mode de préparation, et en respectant certaines données, on peut obtenir des toxines plus ou moins thermostabiles et même une toxine définitivement thermo-résistante.

D'après toutes ces expériences, il semble que les substrats

à base de viande ou riches en produits protidiques jouent un rôle de premier ordre dans la réalisation de ce phénomène et on conçoit l'importance de ces constatations pour la fabrication des conserves de viande et d'abats.

Afin de déterminer les différents facteurs, qui peuvent intervenir pendant l'autoclavage des conserves, pour inhiber leur stérilisation définitive, nous avons effectué des recherches sur :

1° L'influence de la concentration en ions H+ de la conserve (pH) et

2° L'influence de la vitesse de pénétration de la conserve par la chaleur.

En ce qui concerne le premier problème que nous nous sommes posé, nous avons envisagé :

a) La résistance des spores du *Clostridium bifermentans* à la chaleur en fonction du pH du milieu.

b) La stérilisation des substrats infectés en fonction du nombre de spores et du pH du milieu.

c) La variation du pH en fonction du chauffage et du nombre des spores dans les conserves d'abats.

Nous avons ainsi constaté que la résistance du *Clostridium bifermentans* envers la chaleur est maxima dans la zone de pH = 7,22 à pH = 7,49 et qu'elle décroît rapidement lorsque le substrat est plus acide ou plus alcalin.

Ce fait semble assez surprenant, car en comparant ces résultats avec ceux de nos recherches sur le pH optimum de croissance, on se rend compte qu'il n'y a aucune relation entre ces deux facteurs. Alors que l'optimum de croissance se fixe dans les conditions habituelles vers le pH = 8,2, la résistance de notre bactérie vis-à-vis de la chaleur est maxima vers le pH = 7,3 ; ce qui démontre l'intervention d'autres facteurs dans le phénomène de la thermorésistance.

Il ressort de nos expériences que le pH optimum de croissance et le pH optimum de résistance contre la chaleur sont deux facteurs nettement différenciés.

D'après nos résultats expérimentaux on aurait intérêt dans l'industrie des conserves de viande, de stériliser à des pH aussi bas que possible, car c'est dans les zones inférieures à pH = 6,25 que la stérilisation des viandes et abats est la plus rigoureuse et la plus facile à réaliser.

A la suite de ces recherches nous avons constaté que la chaleur de l'autoclave modifie la concentration en ions H+ des substrats à base de viande et d'abats ; il doit se produire certains phénomènes d'hydrolyse des protéïnes, occasionnant une libération d'ions H+.

Cette modification se manifeste dès le premier stade de la stérilisation. Ensuite la chaleur ne semble plus influencer la valeur des pH des conserves. Cependant dans la zone des pH optima de la thermorésistance de notre bactérie, c'est-à-dire entre les pH = 6,75 à pH = 8,2, la stérilisation ne modifie guère la réaction ionique des conserves.

En même temps, il doit se passer sous l'influence de la chaleur une élimination et une transformation des tampons contenus dans les substrats de viande.

Pratiquement, il se dégage de nos expériences les faits suivants : la stérilisation des conserves d'abats et de viande est facilitée en l'effectuant dans des zones à pH modérément acides.

Il faut prendre comme base de départ pour la stérilisation des abats et de viande, le ph du substrat préalablement chauffé et amené à titre d'essai à + 110°.

Quant à l'influence du nombre des spores bactériennes, initialement présentes dans les matières carnées et son rapport avec le pH du milieu sur la stérilisation des substrats, nous pouvons l'illustrer le mieux par l'exemple suivant :

Lorsque dans une matière alimentaire se trouvent avant la stérilisation 30 spores et que le pH est sensiblement à la neutralité, 8 minutes de chauffage à + 120° suffisent pour réaliser la stérilité du substrat ; si le nombre de spores, infectant la denrée atteint 3.000 pour 100 gr., le chauffage de 15 à 20 minutes à + 120° ne suffira pas, car la marge de sécurité ne sera plus suffisante. La conserve ne pourra pas être considérée comme « garantie stérile ».

Ce fait ne se produirait pas, si on avait pris soin de déterminer le pH initial de la conserve, car la stérilité serait assurée dans les conditions employées, si on avait ajusté le pH de la denrée avant la stérilisation vers pH = 6.30, c'est-à-dire dans la zone de la moindre thermorésistance des spores.

Nous avons ensuite étudié différents facteurs en rapport avec la vitesse de pénétration de la chaleur et la stérilisation des conserves de viande et d'abats. A ce sujet, nous avons envisagé les quatre points suivants :

1° Le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur d'un milieu synthétique liquide et celle d'une émulsion de pâté de foie à 1/3.

2° Le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la consistance d'un produit et l'influence des colloïdes sur la stérilisation des denrées.

3° Le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le poids de la conserve à stériliser.

4° Le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le volume des différentes boîtes de conserve habituellement utilisées dans les conserveries.

Nous avons ainsi pu constater que la vitesse de pénétration de la chaleur est beaucoup plus lente pour un substrat émulsionné que pour un liquide. La pénétration de la chaleur de l'extérieur à l'intérieur d'une boîte de conserve est soumise aux lois de la conduction et de la convection. Dans le cas d'un produit émulsionné, épais ou solide, la transmission de la chaleur est soumise partiellement aux phénomènes de la conduction.

On voit donc que la consistance et la composition d'un produit jouent un grand rôle pour la stérilisation des conserves.

La présence de colloïdes, pour nos expériences la gélatine ou l'amidon, dans un substrat à stériliser exerce une influence inhibitrice très marquée sur la vitesse de pénétration de la chaleur. Cette action se manifeste déjà à des concentrations de 2%.

La vitesse de pénétration de la chaleur est encore plus retardée par la présence de la gélatine que par celle de l'amidon. Pour la gélatine, une concentration de 5% suffit pour enrayer complètement les courants de convection de la chaleur. Pour l'amidon, le même phénomène se manifeste à partir d'une concentration de 6%.

A partir d'une concentration en gélatine de 5% et en amidon de 6%, l'influence de la quantité de colloïdes présente dans le substrat devient négligeable. L'action conductrice de chaleur est devenue stable et se manifeste par un retard de transmission de chaleur, jusqu'au centre de la boîte de conserve, d'environ 30 minutes par rapport à une solution vraie, témoin, où seules les lois de convection se manifestent.

Pour les conserves de viandes et d'abats, l'influence de la

gélatine ne doit donc jamais être négligée, quant à l'action de l'amidon, elle entre en ligne de compte surtout pour des conserves de légumes secs, tels que les petits pois, les haricots, etc...

Notons que pour les conserves de fruits, la présence de la pectine comme substance colloïdale doit exercer une influence semblable.

De nos expériences sur le rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et le poids d'un produit, il ressort que la valeur stérilisante de l'autoclavage dépend en grande partie du poids et par conséquent du remplissage des boîtes. Ce fait est en relation avec différents facteurs : la consistance des conserves, la présence de volume plus ou moins important d'air, les phénomènes de la convection et de la conduction de la chaleur.

A la suite de ces recherches, nous avons attiré l'attention sur l'importance de la manipulation employée en conserverie sous le nom de « prèchauffage ». Cette technique devrait être généralisée en France, car elle présente des avantages très importants dans la fabrication des conserves.

On chasse l'air contenu dans les produits à emboîter. L'absence de l'air empêche l'action nuisible de la chaleur sur la qualité des conserves et leur aspect extérieur. Elle empêche également l'attaque du fer-blanc de la paroi intérieure des boîtes et on évite ainsi le phénomène de marmorisation des boîtes, qui est très peu esthétique. La durée de la stérilisation est abrégée d'une façon notable, ce qui rend l'emploi des autoclaves plus économique, en garantissant en même temps la vitesse de pénétration de la chaleur jusqu'au centre des boîtes d'une façon uniforme, pour tout le lot des boîtes soumis à l'autoclavage.

En même temps, la pression intérieure des boîtes pendant la stérilisation est notablement diminuée et l'on obtient après la stérilisation et le refroidissement un vide partiel dans les boîtes, qui évite les phénomènes du flochage et de becquets des boîtes de conserve. Le sertissage à chaud diminue les risques résultant du remplissage inégal des boîtes ; on obtient ainsi plus facilement un remplissage à poids constant de toutes les boîtes.

L'influence des dimensions de la boîte de conserve sur le temps de stérilisation était le quatrième facteur de nos investigations. Celui-ci est fonction de deux principes :

1° La pénétration de la chaleur est en rapport direct avec la distance à parcourir entre le centre et la surface.

2° La pénétration de la chaleur est inversement proportionnelle au rapport entre la surface et le volume d'une boîte. Ce rapport est plus grand pour les petits formats.

En général, pour les boîtes cylindriques dont la hauteur est supérieure au diamètre, le temps nécessaire pour que la chaleur atteigne le centre est sensiblement proportionnel au carré du rayon. Cette règle n'est cependant applicable qu'en considérant tous les autres facteurs intervenant dans la vitesse de pénétration de la chaleur comme nous l'avons vu.

Nous avons ainsi pu démontrer que la stérilisation de conserves de viande et d'abats devient une opération illusoire, qui échappe entièrement au contrôle de ceux qui l'effectuent, sans la connaissance approfondie des quatre facteurs physiques :

Température et durée de la stérilisation.

Vitesse de pénétration de la chaleur.

Volume, poids et consistance du produit à stériliser.

Concentration initiale en ions H+ du produit à stériliser.

Les résultats d'une stérilisation superficielle, ne tenant pas compte de ces facteurs, occasionnent généralement une infection plus ou moins tardive des lots de conserves.

Celle-ci se manifeste par le « bombage biologique » d'un nombre appréciable de boîtes.

Ce « bombage biologique » peut avoir deux origines :

1° Conséquence d'une stérilisation insuffisante et contamination endogène du produit conservé.

2° Conséquence d'une étanchéité défectueuse de la boîte de conserve et par conséquent contamination exogène du produit stérile grâce à une fuite de la boîte.

Le bombage biologique par stérilisation insuffisante, pour les raisons que nous venons d'étudier, est beaucoup plus dangereux, car il comprend d'habitude des lots entiers et la diffusion de ces lots affecte généralement non seulement un individu, mais des collectivités entières.

Nous avons pu démontrer que les bactéries le plus souvent responsables du phénomène de « bombage biologique », appartiennent à la famille des *Clostridiacées* et en particulier à la tribu des *Sprogénidées.*

Cette tribu est caractérisée par les propriétés suivantes :

Bâtonnets GRAM positifs, à spore centrale ou subterminale, à pouvoir protéolytique marqué et à pouvoir pathogène peu prononcé.

Nous y avons distingué deux genres :

Le genre *Sporogenès*, et

Le genre *Bifermentans.*

L'importance du genre *Bifermentans* pour la préparation et la stérilisation des conserves de viande et d'abats a été démontrée récemment par A. SARTORY et J. MEYER, par CHEFTEL et par NACHED. *Clostridium bifermentans* a, d'ailleurs, été isolée pour la première fois par TISSIER et MARTELLY en 1902 en partant de viande de boucherie putrifiée.

Nous avons donné l'étude succincte des caractères morphologiques, culturaux et biologiques du *Clostridium bifermentans*, que nous avons employé pour mener à bien nos recherches sur les causes de contamination des conserves de viande et d'abats.

Nous terminons ce travail en confirmant les résultats de NACHED : les denrées contenant ce germe sont à considérer comme nocives et doivent être refusées à la consommation humaine, d'autant plus que cette bactérie possède un pouvoir protéolytique très prononcé et doit former dans les conserves de viande ou d'abats contaminés, des produits de dégradation toxiques.

La contamination des conserves par le *Clostridium bifermentans,* doit être facile et assez fréquente, vu sa grande thermorésistance et sa propriété de pouvoir survivre, grâce à ses spores, à une stérilisation effectuée dans de mauvaises conditions.

BIBLIOGRAPHIE

32 Armstrong, Story et Scott. — Botulism from eating canned ripe olives. *P.H.R.*, 1919, 34, 2877.

1 Appert Nicolas. — Méthode de conservation de produits alimentaires donnant en outre des produits facilement transportables, Paris, 1801.

Le livre de tous les ménages, ou l'art de conserver pendant plusieurs années toutes les substances animales et végétales, Paris-Massy, 1804.

28 Ball. — Thermal process time for canned food. *Bul. National Reseach Council*, 1923, 7, 1.

45 Barger et Dale. — Note on a supposed soluble toxin of the Bac. of Mal. œdema. *B.M.J.*, 1915, 808.

29. Bengston (A.). — Toxin-producing Anaerobe isolated from Fly Larvae. *P.H.R.* 1923, 38, 340.

Bengston (Ida A.). — Classification of anaerobes producing to. xins poisonous by mouth. *Ab. of B.*, mars 1924, 136.

14 Bergey. — *Manuel of Determinative Bacteriology*, 1933. (Voir également : Hauduroy, Urbain, Guillot et Magrou, *Dictionnaire des Bactéries Pathogènes.* Masson, Paris, 1937).

24 Bidault. — Conserves de la viande et du poisson. *Encycl. Chim. Industr.*, Paris, Baillière, 1927.

57 Bigelow (W.D.). — La nature logarithmique des courbes des temps thermiques mortels. *J. Infec. Diseases*, 1921, 29, 528.

46 Bronfenbrenner Schlesinger et Orr. — Concerning toxic by-products of B. botulinus. *Pr. Soc. Ex. B.a.M.*, 1920-1921, 18, 181.

26 Burke (G.S.). — Studies on the thermal death time of spores of Clostr. botulinum. *J.i.D.*, 1923, 33, 274-284.

35 Burke, Elder et Pischel. — Treatment in botulism. *Arch. of Int. Med.*, 1921, 27, 265.

63 Cameron, Williams et Thompson. — National Canners Association. *Bull.* n° 25-L, 1928.

42 Cheftel (H.). — La stérilisation des conserves par la chaleur. *Lab. des Rech. Biologiques, Bull.* n° 2, Paris, Juin 1935.

60 Cheftel (H.). — Destruction du Bac. subtilis par la chaleur en milieux naturels acidifiés. *C.R. Soc. Biol.*, 98, n° 7, p. 482.

21 Dickson. — Botulism, the danger of poisoning from vegetables canned by the cold pack method. *J.A.M.A.*, 1917, 69, 966.

18 Dolman. — *Journ. Inf. Dis.*, p. 172, 1934.

49 Dupérié. — Recherches bactériologiques et hématologiques sur quelques cas de gangrène gazeuse. *Gaz. hebd. Soc. Méd. Bordeaux*, 1915, 36, 89.

56 Esty, Cameron et Stevenson. — Examen d'aliments conservés avariés. *J. Inf. Diseases*, 1925, 36, 486 et 1926, 39, 89.

39 Francillon (M.). — Einfluss der aeroben Mischinfektion auf Entwicklung und Toxinbildung des Bac. botulinus. *Arch. f. Hyg.*, 1925, 95, 121.

4 Genin (G.). — Technologie de la Fabrication des Conserves : Statistiques, Paris, Sallenches, 1939.

52 Hall. — Differenciation and identification of the sporulating anaerobes. *J.i.D.*, 1922, 30, 445.

53. Hall et Stark. — Serologie agglutination of B. sporogenes. *J.i.D.*, 1923, 33, 240.

50 Miss Hempel. — Some proteolytic anaerobes isolated from septic wounds. *J. of. H.*, 1918, 17, 13.

7 Holman. — *Journ. Bact.*, 1919, t. 4, p. 149.

2 Jones (O.) et (T.W.). — Fabrication de Conserves, Dunod, Paris, 1941.

37 Kempner et Schepilewsky. — Ueber antitoxische Substanzen gegenuber dem Botulinusgift. *Zeitschrift fur Hygiene*, 1898, 27, 213.

19. Knorr (M.) — Botulimsus. *Zeitschr. f.g.H.*, 1924, 7, 161-171 et 241-253.

9 Mac Clung et Mecoy. — *Food Res.*, 1936, l. 307.

64 Magoon et Culpepper. — Relation of initial temperature to pressure, vaccuum and temperature changes in canning operations. *U. St. Dep. Agr. Bul.*, n° 1022, 1922.

3 Manaut (René). — Rapports sur la Valeur alimentaire des Conserves. 1er *Congrès International de la Conserve*, Paris, Desfossés, 1937, p. 7.

20 Marie (P.L.). — Quelques précisions et données nouvelles concernant le botulisme. *Presse Méd.*, 1921, 324-326.

6 Meyer (Jacques) voir aussi : Lutt (Alfred). — Influence du Complément sur l'Hémolyse spécifique des sérums pathologiques dans la réaction de déviation du complément. Colmar, Impr. Alsatia, 1938, p. 49.

27 Meyer (K.F.). — Botulismus Handb. der path. Mikroorganismen Kolle-Krauss-Uhlenhuth, 1928, 4, 2.

58 Meyer (K.F.) et Esty. — La résistance à la chaleur des spores du B. botulinus et des anaerobies voisins. XI. *J. Infect. Diseases*, 1922, 31, 650.

38 Meyer et Gunnison. — South African cultures of Cl. Botulinum and Parabotulinum. *J.i.D.*, 1929, 45, 106.

55 Mormann (H.). — Méthode biologique de la recherche des fuites dans les conserves en boîtes. *Veroffentl. auf dem Gebiete des Militärsanitätswesens*, 1918, 72, 31.

13 Nached Lancin Salib. — Contribution à l'étude de la Flore microbiologique des conserves de viande et d'abats. *Thèse pharm.*, Strasbourg, 1941.

17 Nicolle et Cesari, voir Nicolle et Boquet. — Elément de Microbiologie Générale et d'Immunologie, Paris, Doin, 1926.

30 Orr (P.E.). — Some observations on the biological characteristics of B. botulinus toxin. *Ab. of B.*, 1920, 4, 10.

23 Randall (G.M.). — Botulism a report of filteen cases, in three series. *M. Res. Com.*, 1920, 98, 763.

15 Savage. — Canned Foodsin Relation to Health, 1931.

10 Savage and Bruge White. — Food Poisoning, a Study of 100 recent cases, *Med. Rres. Coun.*, 1935.

11 Sartory (A.) et Meyer (J.). — Une Mycobactériacée nouvelle pathogène pour les animaux, isolée de conserves de viande : Corynebacterium thermophilum n. sp. *Bul. Ac. Méd.*, février 1940. (Voir aussi Weyl Robert).

31 Schoenholz et Meyer. — Toxin production and signs of spoilage in commercialy canned vegetables and fruits inoculated with spores of B. botulinus. *J.i.D.*, 1923, 33, 289.

62 Schmutz Dominique. — Méthodes de Contrôle de Croissance des Bactéries. *Thèse Pharm.*, Strasbourg, 1938.

5 Schulz et Ritz. — Bakteriologische Wasserunterzuchungen. *Centralblatt f. Bakt. u. Par.* I, t. 41, 1832.

54 Serger (H.). — Les bombages des conserves en boîte. *Z. Untersuch. Lebensmittel*, 1921, 41, 49.

34 Sommer et Meyer. — The purification of botulinum toxin. *J.i.D.*, 1926, 39, 345.

51 Sturges et Drake. — Strain variations in Cl. vifermentans. *J. of B.*, 1929, 17, 15.

33 Tanner et Towley. — Action of heat on Botulinus toxin in canned food. *C.f.B.*, 1926, 98, 136.

8 Tarozzi, Muir and Ritchie. — *Manual of Bacteriology*, p. 65.

22 Thom (Charles). — Botulism from the regulatory view point. *A.J.P.H.*, 1922, 12, 49-53.

16 Thresh, Beale et Suckling. — The Examination of Water and Water Supplies, 1929.

43 Tissier et Martelly. — Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. *A.I.P.*, 1902, 16, 865.

59 Viljoen (J.A.). — Etudes sur la résistance à la chaleur des spores bactériennes. *J. Inf. Diseases*, 39, 1926, 286.

61 Vlès (Fr.). — La mesure du pH du sang, Précis de Chimie, Physique. Vigot, Paris, 1929.

25 Weinberg et Ginsbourg. — Traité de bactériologie, t. I, Anaérobie. Paris, Masson, 1931.

48 Weinberg et Ginsbourg. — Infections putrides expérimentales à Bac. bifermentans. *C.R. S. B.*, 1924, 90, 327, et *A.I.P.*, 1925, 39, 652.

36 Weinberg et Goy. — Etude comparative des toxines botuliniques formolées et iodées. *C.R.S.B.*, 1924, 91, 1140 et *C.R.S.B.* 1924, 90, 269 et 1924, 91, 148.

41 Weinberg, Nativelle et Prévot. — Les Microbes Anaérobies, Masson, Paris, 1937.

44 Weinberg et Séguin. — B. sporogenes des plaies de guerre. *C.R.S.B.*, 1916, 79, 1028.

40 Welikanof (I.M.). — Clinique et Sérothérapie du Botulisme. *Gaz. Méd. des Soviets*, 1934, n° 10.

12 Weyl (Robert). — Les maladies mycosiques osseuses en Alsace. Fréquence et localisation. Une Mycobactériacée nouvelle : Corynebacterium thermophilum Sartoryi. *Thèse Pharm.*, Strasbourg, 1940.

47 Zeissler (J.). — Die anaeroben Bazillen, *Klin. Woch.*, 1923, 133, 1533.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 7

PREMIÈRE PARTIE : Historique et statistique 13

Chapitre premier :

Organisation de l'industrie des conserves en France jusqu'à la guerre 1939-1940 13

Chapitre deuxième :

Méthode à suivre pour l'examen microbiologique des conserves de viande et d'abats 19

Analyse microbiologique directe des boîtes de conserve de viande et d'abats 21

Mode d'emploi de l'appareil à vide pour l'anaérobiose 23

Les milieux de culture employés 26

Chapitre troisième :

Considérations générales sur les causes d'altération des conserves de viande et d'abats 29

Les toxiques chimiques 30

Les toxines bactériennes 31

Chapitre quatrième :

Revue des principales bactéries susceptibles d'altérer les conserves de viande et d'abats 33

Le groupe des Salmonella 34

Le groupe des Staphylocoques 38

Le botulisme 39

Chapitre cinquième :

Les bactéries sporogènes, anaérobies, thermorésistantes, dangereuses pour la conserverie. 47

Le genre Sporogenès. 49

Le genre Bifermentans. 49

Deuxième partie : Travaux personnels. 51

Chapitre sixième :

Etude microbiologique du Clostridium bifermentans 51

Chapitre septième :

Sur les techniques de fabrication des conserves. 55

Le bombage biologique des boîtes de conserve.. 58

Chapitre huitième :

Description des appareils et méthodes employées au cours de nos recherches. 61

Technique pour la détermination électrométrique du pH des substrats employés 61

Technique d'ensemencement pour la numération des germes. 63

Méthode de numération des germes contenus dans les conserves par la cellule photo-électrique..... 65

Description du système d'autoclave employé pour effectuer nos recherches. 66

Chapitre neuvième :

Rapport entre la stérilisation des conserves et leur concentrations en ions H. 69

Essais de la résistance des spores du Clostridium bifermentans à la chaleur en fonction du pH du milieu. 70

Variation du pH pendant le chauffage..... 77

Essais de la stérilisation du milieu en fonction du nombre de spores et du pH du substrat..... 79

Chapitre dixième :

Rapport entre la vitesse de pénétration de la chaleur et la stérilité des conserves..... 83

Différence de la vitesse de pénétration de la chaleur entre un substrat liquide et une émulsion. 84

Vitesse de pénétration de la chaleur en rapport avec la constitution et la composition du substrat :

Influence des colloïdes : gélatine et amidon..... 89

Vitesse de pénétration de la chaleur en rapport avec le poids d'un produit..... 94

Vitesse de pénétration de la chaleur en rapport avec le volume des boîtes de conserves généralement employées..... 97

Conclusions générales..... 103

Notes bibliographiques..... 111

Clermont-Ferrand, le 30 mai 1942.

Le Président du Jury :
A. SARTORY.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 31 mai 1942.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie :
A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 2 juin 1942.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université.

Pour le Recteur,
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
A. DANJON.

Imp. Générale. 2, cours Sablon, Clermont-Ferrand